SIMONA DUNCA
ERICA NIMIȚAN
OCTĂVIȚA AILIESEI
MARIUS ȘTEFAN

Elemente de Microbiologie

III 283.310

JUNIMEA

Volumul 1

BIBL. CENTR. UNIV.
"M. EMINESCU" IAȘI
II 283. 310

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

SIMONA DUNCA
ERICA NIMIȚAN
OCTĂVIȚA AILIESEI
MARIUS ȘTEFAN

ELEMENTE DE MICROBIOLOGIE

Volumul I

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

REFERENȚI ȘTIINȚIFICI:

PROF. DR. ANTONIEA POIATĂ

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „GR. T. POPA" IAȘI, FACULTATEA DE FARMACIE – **Specialitatea Microbiologie**

PROF. DR. CONSTANTIN MĂZĂREANU

UNIVERSITATEA BACĂU, FACULTATEA DE ȘTIINȚE – **Specialitatea Microbiologie**

Tehnoredactare computerizată: Marius Ștefan, Simona Dunca
Copertă: Daniel Bîrliga

Toate drepturile asupra acestei lucrări aparțin autorilor. Nici o parte din acest volum nu poate fi copiată sau transmisă prin nici un mijloc (electronic, fotocopiere etc.) fără permisiunea scrisă a autorilor.

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României
Elemente de microbiologie / Simona Dunca, Erica Nimițan, Octăvița Ailiesei, Marius Ștefan – Iași: Junimea, 2005
vol.
ISBN 973-37-1042-3
Vol. 1 – 2005. – ISBN 973-37-1043-1

I. Dunca, Simona Isabela
II. Nimițan, Erica
III. Ailiesei, Octăvița
IV. Ștefan, Marius

579

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

401077

SIMONA DUNCA
ERICA NIMIȚAN

OCTĂVIȚA AILIESEI
MARIUS ȘTEFAN

ELEMENTE DE MICROBIOLOGIE

VOLUMUL I

401078

EDITURA JUNIMEA
IAȘI, 2005

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

MOTTO:

"Microorganismele joacă un rol crucial în evoluția și diversificarea vieții existente pe Pământ. Ele continuă să aibă o semnificație cheie în menținerea formelor de viață la nivel individual, ecosistemic și global"

(D.L. Hawsworth)

31 OCT. 2005

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

PREFAȚĂ

Lumea microorganismelor reprezintă un domeniu complex şi fascinant al ştiinţelor biologice, astfel că interesul ştiinţific pentru studiul lor înregistrează în prezent o creştere permanentă. Cercetările actuale de microbiologie sunt preponderent orientate spre cunoaşterea fiziologiei, geneticii şi ecologiei grupelor de microorganisme, în vederea aprofundării cunoştinţelor teoretice şi evidenţierea posibilităţilor de valorificare în diferite domenii practice, a activităţii lor metabolice şi capacităţii bioproductive.

În ultimul timp s-au editat în centrele universitare lucrări de microbiologie generală sau profilate pe diferite domenii specifice, dar tirajul şi difuzarea lor, de obicei restrânse, a limitat accesul celor interesaţi. Astfel, considerăm că lucrarea „Elemente de microbiologie", volumul I, reprezintă o nouă publicaţie necesară şi oportună.

Volumul cuprinde istoricul dezvoltării microbiologiei ca ştiinţă şi poziţia microorganismelor în lumea vie, după care sunt prezentate elementele fundamentale privind structura, compoziţia chimică, nutriţia, metabolismul, creşterea şi multiplicarea bacteriilor; ultimul capitol fiind rezervat virusurilor.

Menţionăm că pentru facilitarea însuşirii cunoştinţelor prezentate în cadrul volumului, s-a adăugat un scurt glosar cu explicaţia termenilor de specialitate.

Subliniem, de asemenea, că pentru elaborarea acestei lucrări a fost consultată o bogată literatură de specialitate, clasică şi modernă, la care s-a adăugat propria experienţă didactică şi de cercetare a autorilor, cadre didactice la Universitatea „Alexandru Ioan Cuza" din Iaşi, Facultatea de Biologie, Departamentul de Microbiologie.

Lucrarea poate avea audienţă la toţi cei care, prin preocupările lor, au tangenţă cu activitatea microorganismelor, precum şi la studenţii biologi, biochimişti şi ecologi.

ROMANIAN ACADEMY LIBRARY

Dorim să exprimăm gratitudinea noastră doamnei **Prof. univ. dr. Antoniea Poiată** *– Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr. T. Popa" Iaşi, Facultatea de Farmacie, Departamentul de Microbiologie şi domnului* **Prof. univ. dr. Constantin Măzăreanu** *– Universitatea din Bacău, Facultatea de Ştiințe, Catedra de Biologie, Departamentul de Microbiologie, în calitate de referenți ştiințifici, pentru sugestiile făcute cu ocazia analizei lucrării şi pentru aprecierile generale favorabile.*

Vom fi recunoscători tuturor celor care, cu bunăcredință, ne vor semnala eventualele observații, în vederea îmbunătățirii calității lucrării.

Autorii

BCU IAŞI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CUPRINS

1. ISTORICUL DEZVOLTĂRII MICROBIOLOGIEI CA ŞTIINŢĂ 11

1.1. DEZVOLTAREA MICROBIOLOGIEI CA ŞTIINŢĂ 12

1.2. PERIOADA MODERNĂ A DEZVOLTĂRII MICROBIOLOGIEI 19

1.3. DEZVOLTAREA ŞTIINŢELOR MICROBIOLOGICE ÎN ROMÂNIA 20

1.4. RAMURILE MICROBIOLOGIEI 24

2. POZIŢIA MICROORGANISMELOR ÎN LUMEA VIE 26

2.1. CLASIFICAREA LUMII VII ÎN 5 REGNURI 27

2.2. CLASIFICAREA LUMII VII ÎN 3 DOMENII 28

2.3. CLASIFICAREA PROCARIOTELOR 30

3. MICROORGANISME PROCARIOTE – BACTERIILE 33

3.1. MORFOLOGIA ŞI DIMENSIUNILE BACTERIILOR 34

3.1.1. Bacteriile sferice 35

3.1.2. Bacteriile cilindrice 36

3.1.3. Bacteriile spiralate (elicoidale) 38

3.1.4. Bacteriile filamentoase 39

3.1.5. Bacteriile pătrate 40

3.1.6. Dimensiunile bacteriilor 40

3.2. ULTRASTRUCTURA CELULEI BACTERIENE 42

3.2.1. Peretele celular bacterian 44

3.2.2. Membrana citoplasmatică 51

3.2.3. Citoplasma 54

3.2.4. Materialul nuclear 54

3.2.5. Ribozomii 58

3.2.6. Vacuolele 58

3.2.7. Incluziunile citoplasmatice 60

3.2.8. Capsula şi stratul mucos 62

3.2.9. Glicocalixul 66

3.2.10. Flagelii 67

BCU IASI

3.2.11. Pilii şi fimbriile 73
3.2.12. Sporul bacterian 75
3.2.13. Cromatoforii 83
4. COMPOZIŢIA CHIMICĂ A CELULEI BACTERIENE 85
4.1. SUBSTANŢELE ANORGANICE 86
4.1.1. Apa 86
4.1.2. Substanţele minerale 87
4.2. SUBSTANŢELE ORGANICE 88
4.2.1. Glucidele 89
4.2.2. Lipidele 91
4.2.3. Proteinele 91
4.2.4. Acizii nucleici 94
5. NUTRIŢIA BACTERIANĂ 96
5.1. NECESITĂŢI NUTRITIVE 97
5.1.1. Macroelemente (macronutrienţi) 97
5.1.2. Microelemente (micronutrienţi) 100
5.1.3. Factori de creştere 101
5.2. DIFUZIA ŞI TRANSPORTUL SUBSTANŢELOR PRIN MEMBRANELE CELULARE 103
5.2.1. Difuzia pasivă 104
5.2.2. Transportul cu ajutorul unor transportori 105
5.3. TIPURILE TROFICE 106
5.4. TIPURI PARTICULARE DE NUTRIŢIE 114
6. METABOLISMUL BACTERIAN 116
6.1. DEFINIŢIE. TRĂSĂTURI GENERALE 117
6.2. CĂILE METABOLICE 118
6.3. CATABOLISMUL HIDRAŢILOR DE CARBON 120
6.3.1. Respiraţia celulară 120
6.3.2. Fermentaţia 129
6.4. BILANŢUL ENERGETIC AL PROCESELOR DE OXIDOREDUCERE BIOLOGICĂ 129
6.5. CATABOLISMUL LIPIDIC ŞI PROTEIC 131
6.6. ANABOLISMUL 131
7. CREŞTEREA ŞI MULTIPLICAREA BACTERIILOR 133
7.1. CREŞTEREA BACTERIILOR 134
7.2. MULTIPLICAREA BACTERIILOR 135

7.2.1. Multiplicarea prin diviziune directă 135
7.2.2. Multiplicarea prin înmugurire 138
7.2.3. Multiplicarea prin fragmentare 140
7.2.4. Multiplicarea prin spori 142
7.3. ESTIMAREA CREŞTERII BACTERIENE 145
7.4. DINAMICA MULTIPLICĂRII BACTERIILOR ÎN CULTURI 150
7.4.1. Culturi discontinue asincrone 150
7.4.2. Culturi sincrone 154
7.4.3. Culturi continue 155
7.5. CULTURI ŞI COLONII BACTERIENE 158
7.5.1. Culturi bacteriene în medii lichide 158
7.5.2. Culturi bacteriene pe medii solide 159
7.6. INFLUENŢA FACTORILOR DE MEDIU ASUPRA CREŞTERII BACTERIILOR 163
7.6.1. Concentraţia şi natura substratului nutritiv 163
7.6.2. Apa 164
7.6.3. Temperatura 165
7.6.4. pH-ul 167
7.6.5. O_2 168
7.6.6. CO_2 172
7.6.7. Presiunea osmotică 173
8. GRUPE PARTICULARE DE BACTERII 176
8.1. MIXOBACTERIILE 177
8.2. SPIROCHETELE 180
8.3. ACTINOMICETELE 184
8.4. RICKETTSIILE 188
8.5. CHLAMIDIILE 191
8.6. MICOPLASMELE 194
9. VIRUSURI. VIROIZI. PRIONI. 198
9.1. CARACTERELE GENERALE ALE VIRUSURILOR 199
9.1.1. Dimensiunile virusurilor 201
9.2. CLASIFICAREA VIRUSURILOR 202
9.3. STRUCTURA VIRUSURILOR 206
9.4. MORFOLOGIA VIRUSURILOR 212
9.5. MULTIPLICAREA VIRUSURILOR 214
9.6. BACTERIOFAGII 215
9.6.1. Bacteriofagi cu ADN 215
9.6.2. Bacteriofagi cu ARN 217

B.C.U. „M. EMINESCU" IAŞI
BCU IASI

9.6.3. Multiplicarea bacteriofagilor 217
9.6.4. Importanța practică a bacteriofagilor 228
9.7. MULTIPLICAREA VIRUSURILOR ANIMALELOR 229
9.7.1. Multiplicarea virusurilor animalelor cu ADN 229
9.7.2. Multiplicarea virusurilor animalelor cu ARN 234
9.7.3. Consecințe ale infecției virale asupra celulelor animale 238
9.7.3.1. Infecția litică 239
9.7.3.2. Infecția latentă 239
9.7.3.3. Infecția persistentă 240
9.7.3.4. Virusurile şi cancerul 240
9.7.4. Virusul HIV 244
9.8. VIRUSURILE PLANTELOR 247
9.9. VIROIZII ŞI PRIONII 248
GLOSAR 251
BIBLIOGRAFIE 259

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

1

ISTORICUL DEZVOLTĂRII MICROBIOLOGIEI CA ŞTIINȚĂ

Louis Pasteur

1.1. Dezvoltarea microbiologiei ca ştiinţă
1.2. Perioada modernă a dezvoltării microbiologiei
1.3. Dezvoltarea ştiinţelor microbiologice în România
1.4. Ramurile microbiologiei

BCU IAŞI UNIVERSITY LIBRARY

1.1. DEZVOLTAREA MICROBIOLOGIEI CA ŞTIINŢĂ

Microbiologia (gr. *mikros* = mic, *bios* = viaţă, *logos* = ştiinţă) este ştiinţa care se ocupă cu studiul celor mai mici organisme ce pot fi observate numai cu ajutorul microscoapelor, fiind denumite în sens larg microbi – termen introdus de Sedillot în 1880.

Obiectul de studiu al microbiologiei îl reprezintă microorganismele, un grup vast şi heterogen ca morfologie, activitate biologică şi poziţie sistematică dar, având drept caractere comune dimensiunile microscopice, organizarea în general unicelulară şi structura internă relativ simplă.

În grupul microorganismelor sunt incluse: **bacteriile**, **fungii microscopici**, unele **alge, protozoarele**. Tot în grupul microorganismelor sunt incluse, în mod obişnuit şi **virusurile,** entităţi corpusculare de dimensiuni foarte mici, cu organizare subcelulară, formate din proteine şi acizi nucleici, care nu pot exista autonom, nu se pot multiplica în afara celulei vii, fapt ce le obligă la un parazitism intracelular absolut.

Microbiologia generală este o ştiinţă biologică fundamentală. Ea studiază caracterele generale ale microorganismelor, morfologia, structura, fiziologia, sistematica, răspândirea lor în natură, originea, evoluţia, ereditatea şi variabilitatea lor. Studiind, de asemenea, interrelaţiile dintre microorganisme şi relaţiile lor cu macroorganismele, microbiologia generală este considerată o ştiinţă de sinteză şi are strânse legături cu biochimia, fiziologia, genetica, biologia generală.

Istoria microbiologiei şi progresele ei sunt strâns legate de descoperirea microscopului de către olandezul ***Antonie van Leeuwenhoek*** (1632-1723) – Fig. 1 – şi de geniul lui Louis Pasteur. Leeuwenhoek a construit un microscop simplu (Fig. 2) cu ajutorul căruia observă microorganismele foarte mici existente în diferite medii, făcând aprecieri asupra formei, mobilităţii şi dimensiunilor lor. Observator genial, el arată lumii ştiinţifice extraordinara activitate a microorganismelor şi bogăţia mediilor naturale în bacterii, levuri, alge şi protozoare.

Descrierile făcute de Leeuwenhoek sunt de o asemenea precizie, încât şi astăzi ele determină admiraţie. Aceste descoperiri, comunicate Societăţii Regale de Ştiinţe din Londra şi publicate apoi în lucrarea sa intitulată *„Arcana naturae ope microscopiorum detecta"* (*Tainele naturii descoperite cu ajutorul microscoapelor*) din 1675, nu au fost urmate de un progres rapid al cunoştinţelor, aşa cum ar fi fost de aşteptat. În schimb, ele au devenit obiectul unor polemici cu privire la originea lor.

În acea epocă (sec. al XVII-lea) era susţinută teoria „generaţiei spontane", a apariţiei acestor microorganisme din materia moartă sau „de la sine".

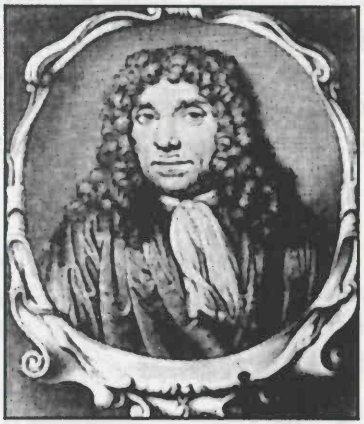


Fig. 1 - Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723)

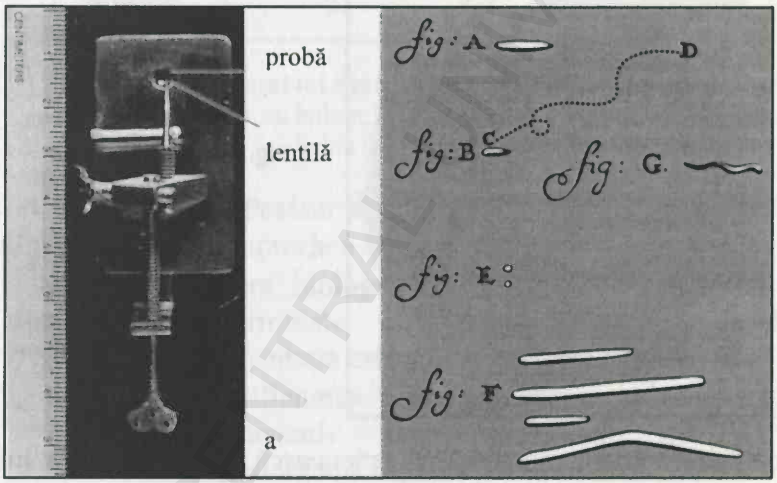


Fig. 2 – Observaţiile microscopice ale lui van Leeuwenhoek:
a - copie a microscopului; b - câteva din desenele făcute în 1683

În sec. al XVIII-lea adepţii „generaţiei spontane" mai susţineau încă această teorie în privinţa originii microbilor. Această teorie a fost combătută în mod ştiinţific de ***Lazzaro Spallanzani***, profesor la Universitatea din Pavia-Italia. El a dovedit că microorganismele pot fi distruse prin fierbere prelungită, că nu mai reapar în lichidul fiert şi menţinut în vas ermetic închis; a descoperit existenţa bacteriilor patogene şi a celor anaerobe, organisme care trăiesc la adăpost de oxigenul liber.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Odată cu perfecţionarea microscopului a început şi munca de identificare a microorganismelor şi de sistematizare a cunoştinţelor despre ele.

În dezvoltarea ulterioară a microbiologiei ca ştiinţă se pot distinge două perioade: morfologică şi fiziologică. Perioada morfologică se caracterizează prin cercetări asupra formei şi structurii microorganismelor. Ceea ce s-a acumulat în decursul acestei perioade morfologice, până în a doua jumătate a secolului al XIX-lea, nu a fost suficient pentru a se elabora o teorie ştiinţifică în legătură cu activitatea microorganismelor.

În a doua jumătate a secolului al XIX-lea, perioada morfologică a fost înlocuită cu perioada fiziologică. Începutul perioadei fiziologice de dezvoltare a microbiologiei este marcată de opera ştiinţifică a marelui savant francez ***Louis Pasteur*** (1822-1895) – Fig. 3.

Fig. 3 – Louis Pasteur (1822-1895)

Analizând tot ceea ce gândirea omenească a intuit anterior lui, în acest domeniu, chimistul şi medicul Pasteur, considerat pe drept cuvânt părintele microbiologiei, a pus bazele acestei ştiinţe în general şi a microbiologiei medicale în special.

Autoritatea ştiinţifică a lui Pasteur a făcut posibilă demonstrarea în mod definitiv a faptului că bacteriile şi fungii microscopici nu se nasc spontan. A fost astfel combătută definitiv teoria „generaţiei spontane" (Fig. 4).

Cercetările lui Pasteur în domeniul fermentaţiilor au început prin descoperirea rolului microorganismelor în procesele fermentative. Potrivit conceptului lui Pasteur, fermentaţiile sunt transformări chimice care au loc ca o consecinţă a metabolismului anumitor bacterii şi ciuperci. Pasteur a ajuns la acest concept ca urmare a experienţelor care

demonstrau că unele microorganisme determină prin înmulţire transformări chimice specifice. Astfel, dezvoltarea ciupercii *Penicillium glaucum* în prezenţa unui amestec de cristale de tartrat dextro- şi levogir metabolizează numai izomerul dextrogir, lăsându-l intact pe cel levogir, printr-o activitate fiziologică selectivă şi foarte specifică.

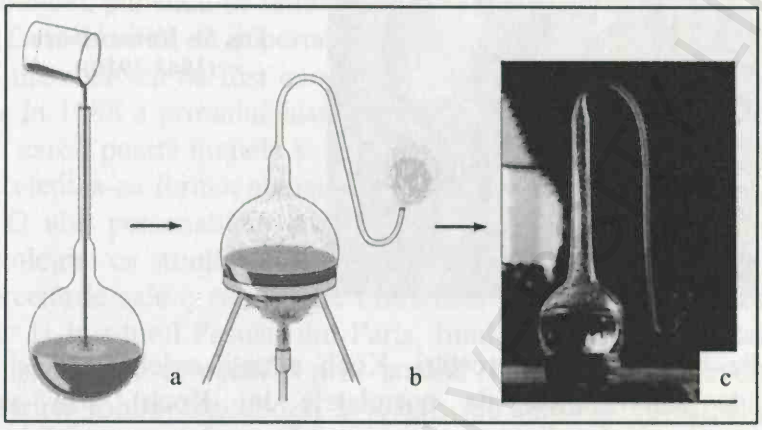


Fig. 4 – Experimentul lui Pasteur prin care a infirmat teoria „generaţiei spontane": a - balon cu bulion; b - balon cu gât în formă de „S", sterilizat prin fierbere; c - balon cu bulion lipsit de microorganisme

Cercetările lui Pasteur asupra fermentaţiilor normale şi deviate ale vinului şi berii l-au condus la o serie de concluzii fundamentale:

- natura biologică a fermentaţiilor (procese biologice determinate de microorganisme anaerobe, deci fermentaţia este viaţă fără aer);
- specificitatea proceselor fermentative (fiecare proces fermentativ este determinat de un anumit microorganism);
- natura biologică a „bolilor" băuturilor fermentate (bere, vin), modificări determinate de dezvoltarea unor specii microbiene străine, nedorite, ceea ce duce la alterarea gustului, aromei, calităţii băuturii.

Louis Pasteur arată că multiplicarea acestor microorganisme poate fi prevenită prin încălzire la 56^0 C, prin procedeul utilizat sub denumirea de *pasteurizare*.

Louis Pasteur şi medicul german ***Robert Koch*** (1843-1910) – Fig. 5 – sunt veritabilii fondatori ai bacteriologiei medicale, unde teoria germenilor în apariţia bolilor infecţioase îşi găseşte o puternică confirmare.

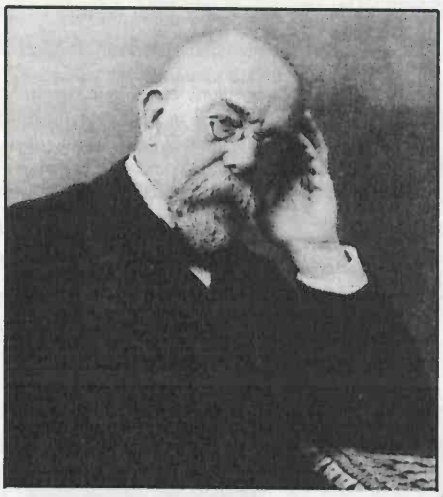


Fig. 5 – Robert Koch (1843-1910)

Pe baza acestor cercetări, Koch enunţă celebrele sale criterii (cunoscute sub numele de postulatele lui Koch) prin care un microorganism izolat dintr-un organism afectat de o anumită boală, să poată fi considerat în mod justificat agent cauzal al bolii respective:

- ✓ microorganismul incriminat să poată fi pus în evidenţă în toate cazurile bolii respective, iar distribuţia lui să corespundă leziunilor caracteristice bolii;
- ✓ să poată fi izolat în cultură pură pe medii artificiale;
- ✓ după cultivarea *in vitro* mai multe generaţii să reproducă boala şi leziunile specifice la animalele sensibile, de la care să poată fi reizolat.

Lui Koch şi colaboratorilor săi le datorăm punerea la punct şi perfecţionarea tehnicilor de izolare şi identificare a bacteriilor. Contribuţiile de ordin teoretic şi practic ale lui Koch au avut o deosebită importanţă în dezvoltarea microbiologiei ca ştiinţă. El introduce mediile de cultură solide în practica microbiologică şi precizează conceptul de microb.

Descoperirea şi izolarea agenţilor patogeni ai bolilor infecţioase de către Pasteur şi Koch au dus la apariţia unei ştiinţe noi – **imunologia**. Descoperind etiologia microbiană a bolilor infecţioase, Pasteur abordează problema prevenirii specifice a infecţiilor, punând bazele imuno-profilaxiei prin vaccinuri vii şi cu virulenţa atenuată.

Studiind holera găinilor, Pasteur a observat că agentul patogen al acestei infecţii devine avirulent prin învechirea culturii, deci îşi pierde capacitatea de a produce boala. Inoculată la păsările sănătoase, această cultură avirulentă inducea o rezistenţă la boală, păsările devenind imune.

După decoperirea vaccinului antiholeric aviar, *Pasteur* prepară vaccinul anticărbunos (1881) şi vaccinul antirabic (1885) fapt deosebit de important din punct de vedere practic, deoarece virusul rabic nu fusese pus în evidenţă de Pasteur datorită lipsei unor mijloace tehnice corespunzătoare. Prepararea acestor vaccinuri a creat baza experimentală a imunologiei, punându-se astfel la punct principiile vaccinărilor.

Descoperirile de importanţă teoretică şi practică fundamentală ale acestui mare savant au fost onorate de poporul francez, prin construirea la Paris în 1888 a primului Institut de Microbiologie din lume. În acest institut, care-i poartă numele şi în care savantul a lucrat până în ultimele zile ale vieţii, s-au format numeroşi oameni de ştiinţă.

O altă personalitate ştiinţifică care a contribuit la dezvoltarea microbiologiei ca ştiinţă a fost ***Ilia Mecinikov*** (1845-1916), care a adus prin cercetările sale o contribuţie însemnată la dezvoltarea imunologiei. A lucrat la Institutul Pasteur din Paris, fiind contemporan cu Pasteur şi Koch. Îşi începe cercetările prin studiul inflamaţiei la nevertebrate. Descoperirea rolului fagocitozei în toată scara animală reprezintă punctul culminant al cercetărilor de filogenie comparată întreprinse de acest mare biolog.

Demonstrând însemnătatea reacţiilor celulare în infecţii, descoperă şi denumeşte fagocitoza ca factor determinant în apărarea naturală a organismelor. El este considerat fondatorul teoriei celulare a imunităţii, pe care o expune în lucrarea sa *„Imunitatea şi bolile infecţioase"*, publicată în 1901, pentru care primeşte în 1908 premiul Nobel.

Dimitrie I. Ivanovski (1869-1920) a pus în evidenţă în anul 1892 o nouă formă de existenţă a materiei vii, virusurile filtrabile, prin descoperirea virusului mozaicului tutunului (VMT) şi astfel începe dezvoltarea unei noi ştiinţe microbiologice – **virusologia.**

Ivanovski demonstrează, pentru prima dată, că agentul bolii prezent în sucul plantei de tutun bolnavă este de dimensiuni foarte mici, încât trece prin porii filtrelor care reţin bacteriile. Filtratul obţinut, lipsit de bacterii sau ciuperci, inoculat la o plantă de tutun sănătoasă, reproduce boala şi agentul infecţios se înmulţeşte considerabil în ţesutul vegetal al gazdei.

Experienţele lui Ivanovski sunt confirmate în 1898 de ***Martinus Beijerinck*** (1851-1931) – Fig. 6 – care intuieşte natura deosebită a agentului patogen cunoscut astăzi ca fiind virusul mozaicului tutunului. Beijerinck este considerat adevăratul întemeietor al virusologiei ca ştiinţă.

Fig. 6 – Martinus Beijerinck (1851-1931)

Anii de glorie ai microbiologiei sunt sintetizaţi în Tabelul I.

Tabel I – Anii de glorie ai microbiologiei

Anul	Cercetătorul	Descoperirea
1684	Antonie van Leeuwenhoek	Descoperirea microorganismelor
1798	Edward Jenner	Vaccinul împotriva variolei
1857	Louis Pasteur	Microbiologia fermentaţiei lactice
1860	Louis Pasteur	Rolul drojdiilor în fermentaţia alcoolică
1864	Louis Pasteur	Infirmarea teoriei generaţiei spontane
1881	Robert Koch	Metode pentru studiul bacteriilor în culturi pure
1882	Robert Koch	Descoperirea agentului etiologic al tuberculozei (*Mycobacterium tuberculosis*)
1884	Robert Koch	Postulatele lui Koch
1884	Christian Gram	Metoda colorației Gram
1889	Sergei Winogradsky	Conceptul de chemolitotrofie
1889	Martinus Beijerinck	Conceptul de virus
1901	Martinus Beijerinck	Metoda culturilor îmbogăţite
1901	Emil A von Behring	Descoperirea antitoxinei difterice
1901	Karl Landsteiner	Grupe umane de sânge
1908	Paul Ehrlich	Agenţi chemoterapeutici
1928	Frederick Griffith	Descoperirea transformării genetice la pneumococi
1929	Alexander Fleming	Descoperirea penicilinei
1944	Selman Waksman, Albert Schatz	Descoperirea streptomicinei
1946	Edward Tatum, Joshua Lederberg	Conjugarea bacteriană

Anul	Cercetătorul	Descoperirea
1953	James Watson, Francis Crick, Rosalind Franklin	Structura ADN
1967	Thomas Brock	Descoperirea dezvoltării bacteriilor în apele termale
1969	Howard Temin, David Baltimore, Renato Dulbeco	Descoperirea retrovirusurilor/reverstranscriptaza
1969	Max Delbrück, Alfred Hershey, Salvador Luria	Descrierea mecanismului infecţiei virale la celula bacteriană
1977	Carl Woese, George Fox	Descoperirea arheobacteriilor
1981	Stanley Prusiner	Caracterizarea prionilor
1982	Aaron Klug	Descrierea structurii virusului mozaicului tutunului (VMT)
1983	Luc Montagnier	Descoperirea virusului HIV
1988	Johan Deisenhofer, Robert Huber, Hartmurt Michel	Descrierea structurii pigmenţilor bacteriilor fotosintetizante
1989	Michael Bishop, Harold Varmus	Descoperirea oncogenelor
1995	Craig Venter, Hamilton Smith	Secvenţierea completă a genomului bacterian
1997	Stanley Prusiner	Descoperirea relaţiei dintre prioni şi bolile neurologice de la animale şi om

1.2. PERIOADA MODERNĂ A DEZVOLTĂRII MICROBIOLOGIEI

Fiind una dintre cele mai dinamice ştiinţe biologice, microbiologia încă de la începuturile sale şi-a marcat tendinţa de implicare în diferite domenii ale activităţii umane. Datorită faptului că microorganismele sunt uşor de cultivat, se multiplică repede şi se pot obţine populaţii numeroase, ele au constituit un instrument favorabil pentru studiile de genetică. Anul 1944 a marcat în această privinţă o etapă esenţială – debutul biologiei moleculare.

Microbiologia furnizează biologiei moleculare materialul său de studiu. Graţie bacteriilor, a fost posibilă cunoaşterea mecanismului sintezei proteice, descifrarea codului genetic, analiza mecanismelor de reglare celulară care adaptează potenţialul genetic la necesităţile organismului.

Impactul microbiologiei asupra dezvoltării ştiinţelor biologice, în general, în ultimele decenii, este ilustrat de rolul său în transformările aduse de revoluţia biologiei moleculare, care au permis înţelegerea aprofundată a unui număr important de procese şi fenomene caracteristice organismelor vii.

Perioada actuală a dezvoltării microbiologiei este marcată de punerea la punct a tehnicilor de inginerie genetică şi de **biotehnologii**. Ingineria genetică reprezintă, fără îndoială, una dintre activităţile cele mai originale şi mai revoluţionare ale secolului XX. Cunoaşterea aprofundată a biologiei bacteriei *Escherichia coli*, descoperirea plasmidelor, a fenomenului de restricţie la bacterii şi a enzimelor care acţionează asupra moleculei de ADN, au dus la elaborarea tehnologiilor ingineriei genetice şi au deschis calea unei noi revoluţii în biologie – revoluţia biotehnologică, bazată, în special, pe utilizarea în industrie a microorganismelor reprogramate genetic a efectua anumite activităţi utile omului.

S-au pus în practică, *in vitro* recombinările genetice (tehnologia ADN recombinant), veritabile grefe între două molecule de ADN. Celula bacteriană care primeşte astfel o informaţie nouă (de la o altă bacterie, celulă animală sau vegetală) devine capabilă să producă substanţa pentru care a fost programată.

Aceste tehnici prezintă un mare interes pentru producerea de către bacterii a hormonilor, a factorilor de coagulare, a enzimelor. În acelaşi timp, agricultura va fi transformată considerabil prin crearea de plante cu proprietăţi noi. Se consideră de exemplu, că se vor putea transforma unele plante leguminoase care vor fixa azotul atmosferic fără ajutorul simbiozei cu bacteriile.

1.3. DEZVOLTAREA ŞTIINŢELOR MICROBIOLOGICE ÎN ROMÂNIA

În dezvoltarea microbiologiei ca ştiinţă un aport important a fost adus de mulţi savanţi români, de reputaţie internaţională, care şi-au consacrat întreaga activitate ştiinţifică cercetărilor fundamentale de microbiologie, virusologie, imunologie şi imunochimie.

Fondatorul microbiologiei româneşti a fost ***Victor Babeş*** (1854-1926) – Fig. 7, primul profesor de microbiologie la Facultatea de medicină din Bucureşti. Savant de talie mondială, Babeş a studiat structura bacteriilor şi a pus în evidenţă, la bacilul difteric, prezenţa unor granulaţii metacromatice, numite de atunci granulaţiile *Babeş – Ernst*.

Fig. 7 – Victor Babeş (1854-1926)

A făcut cercetări asupra leprei, tuberculozei, holerei şi mai ales asupra turbării. El descoperă în neuronii animalelor moarte de turbare corpusculi caracteristici, cu valoare de diagnostic, numiţi corpusculii *Babeş – Negri*. Împreună cu profesorul francez ***V. Cornil*** a publicat în 1885, în limba franceză, primul tratat de bacteriologie şi anatomie patologică din lume intitulat "*Bacteriile şi rolul lor în etiologia, anatomia şi histologia patologică a bolilor infecţioase*". A descoperit peste 40 de microorganisme patogene, descoperiri a căror importanţă este subliniată de către sistematicieni prin crearea grupului taxonomic care-i poartă numele: familia *Babesiidae*. Prepară după o metodă proprie vaccinul antirabic şi introduce vaccinarea antirabică în ţara noastră. A introdus pentru prima dată la noi în ţară seroterapia antidifterică, România fiind prima ţară din lume în care serul antidifteric preparat de el a fost aplicat pe scară largă. A creat la Bucureşti în 1888 „Institutul de Bacteriologie" (astăzi „Institutul Victor Babeş"), al treilea institut de bacteriologie din lume.

Prin întreaga sa activitate, Victor Babeş a dovedit că îşi merită locul printre cei mai renumiţi savanţi ai lumii.

O proeminentă personalitate a vieţii ştiinţifice româneşti a fost ***Ioan Cantacuzino*** (1863-1934) – Fig. 8 – care prin calităţile sale deosebite de cercetător şi organizator a înfăptuit în ţara noastră o însemnată operă în domeniul bacteriologiei, imunologiei, epidemiologiei, contribuind astfel la afirmarea ştiinţei româneşti pe plan mondial.

Studiază în cadrul Institutului Pasteur din Paris, fiind elevul lui Ilia Mecinikov. A înfiinţat la Bucureşti Laboratorul de medicină experimentală care, în 1921, se transformă în Institutul de seruri şi

vaccinuri, institut care îşi continuă activitatea şi astăzi sub numele de „Institutul Dr. I. Cantacuzino".

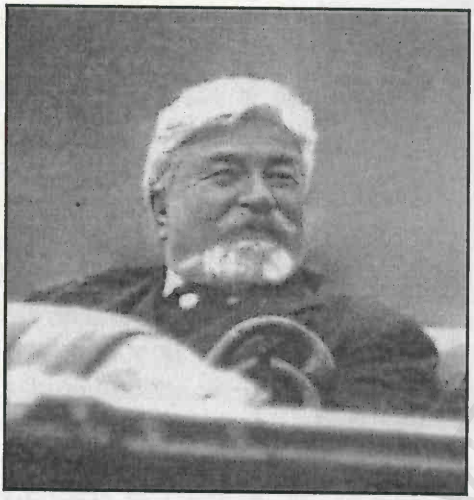


Fig. 8 – Ioan Cantacuzino (1863-1934)

A adus o contribuţie ştiinţifică originală la cunoaşterea fenomenelor de apărare nespecifică a organismelor. Cele mai importante lucrări se referă la aparatele şi funcţiile fagocitare în regnul animal şi lucrările privind imunitatea la nevertebrate, lucrări citate şi astăzi în literatura universală.

O contribuţie ştiinţifică deosebită a adus-o în domeniul medicinei preventive. În laboratorul său se prepară vaccinul antiholeric, anticărbunos, antituberculos etc. O mare parte din activitatea ştiinţifică şi practică a savantului a fost îndreptată spre combaterea tuberculozei. Introduce vaccinarea antituberculoasă în 1926, ţara noastră fiind a doua din lume care a folosit-o.

Alţi microbiologi români, mulţi dintre ei colaboratori şi elevi ai lui Babeş şi Cantacuzino, au adus importante contribuţii la dezvoltarea microbiologiei româneşti şi mondiale, dintre care menţionăm, Constantin Levaditi, Constantin Ionescu-Mihăieşti, Mihai Ciucă, Dumitru Combiescu, Ştefan S. Nicolau şi mulţi alţii.

Constantin Levaditi (1874-1953) s-a remarcat prin cercetări în domeniul imunologiei, virusologiei şi chimioterapiei.

Constantin Ionescu-Mihăieşti (1883-1962) – Fig. 9 – a avut un rol important în organizarea şi dezvoltarea Institutului „Dr. I. Cantacuzino" şi formarea microbiologilor din România. Cercetările sale originale se referă la metabolismul şi imunochimia bacilului tuberculozei, studii asupra poliomielitei, holerei, antraxului etc.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 9 – Constantin Ionescu-Mihăieşti (1883-1962)

Mihai Ciucă (1883-1969) – Fig. 10 – a publicat numeroase lucrări legate de fenomenul de lizogenie, de paludism, salmoneloze, infecţii de spital şi a avut un rol esenţial în eradicarea malariei în ţara noastră.

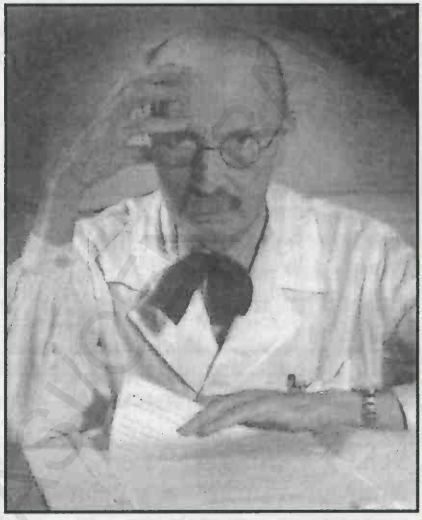


Fig. 10 – Mihai Ciucă (1883-1969)

Dumitru Combiescu (1887-1961) aduce contribuţii originale importante privind variabilitatea microorganismelor, imunitatea şi infecţia în antrax, studii referitoare la rickettsioze, leptospiroze, tifos exantematic.

Ştefan S. Nicolau (1896-1967) este creatorul şcolii româneşti de virusologie şi fondatorul institutului respectiv. A publicat lucrări

originale în domeniul herpesului, turbării, hepatitelor virale, oncogenezei virale, variabilității virusurilor, imunității în viroze etc.

Printre personalitățile în viață citām pe Acad. ***G. Zarnea*** a cărui activitate în domeniul microbiologiei generale, imunologiei, virusologiei şi ecologiei microorganismelor este remarcabilă. Demne de menționat sunt cele cinci volume ale tratatului de Microbiologie generală apărute în prestigioasa editură a Academiei Române.

1.4. RAMURILE MICROBIOLOGIEI

Datorită heterogenității microorganismelor şi a activităților pe care acestea le desfăşoară în natură s-au diferențiat în cadrul microbiologiei o serie de discipline microbiologice independente: bacteriologia, virusologia, microbiologia acvatică, microbiologia solului, ecologia microorganismelor, genetica microorganismelor, microbiologia medicală, biotehnologiile microbiene etc. (Tabel II).

Tabel II – Ramurile microbiologiei

Ramura	Obiectul de studiu
Microbiologie medicală umană	Producția preparatelor biologice, profilactice şi de diagnostic cu ajutorul cărora se asigură controlul bolilor infecțioase umane.
Microbiologie medicală veterinară	Controlul bolilor comune omului şi animalelor, precum şi controlul microbiologic al alimentelor de natură animală.
Ecologia microorganismelor	Controlul microbiologic al mediului, apei, aerului şi îmbunătățirea calității acestora. Utilizarea procedeelor microbiologice de epurare şi tratare a deşeurilor urbane şi industriale.
Microbiologie acvatică	Rolul microorganismelor acvatice în bioproducție şi recircularea elementelor biogene.
Microbiologia solului	Rolul microorganismelor în asigurarea fertilității naturale a solului şi utilizarea preparatelor microbiene în calitate de biofertilizatori.
Microbiologie geologică	Rolul microorganismelor în formarea unor zăcăminte şi utilizarea lor în extragerea elementelor utile, prospectarea şi recuperarea petrolului.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Ramura	Obiectul de studiu
Microbiologia insectelor	Speciile de virusuri, bacterii şi fungi care populează corpul insectelor şi utilizarea lor pentru combaterea biologică a insectelor dăunătoare.
Biotehnologii microbiene	Utilizarea microorganismelor în vederea obţinerii unor produse alimentare clasice: bere, alcool, pâine, carne, conserve etc. Obţinerea de proteine microbiene cu utilizare alimentară sau furajeră. Obţinerea de medicamente şi a altor produse necesare în medicină: antibiotice, vitamine, hormoni, aminoacizi, acizi organici, enzime, alcaloizi, activatori ai creşterii etc.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

2

POZIȚIA MICROORGANISMELOR ÎN LUMEA VIE

Procariot filamentos fosilizat (Precambrian)

2.1. Clasificarea lumii vii în 5 regnuri
2.2. Clasificarea lumii vii în 3 domenii
2.3. Clasificarea procariotelor

BCU IAȘI - CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

2.1. CLASIFICAREA LUMII VII ÎN 5 REGNURI

Înainte de descoperirea microorganismelor, lumea vie a fost împărțită de către Linné în două regnuri – animal și vegetal, unitatea structurală a lumii vii fiind celula.

Pe măsură ce științele biologice au evoluat, specialiștii au început să caute un sistem natural de clasificare în care organismele să fie clasificate în funcție de strămoșii comuni. În 1857, Carl von Nageli, contemporan cu Pasteur, propune ca bacteriile și fungii să fie încadrați în regnul plantelor. În 1866, Ernst Haeckel propune regnul **Protista** care include bacteriile, protozoarele, algele și fungii. Din cauza neînțelegerilor în ceea ce privește definiția protistelor, biologii au continuat să urmeze ideea lui von Nageli, de a plasa bacteriile și fungii în regnul plantelor. Fungii au fost plasați în propriul lor regn în 1959.

Cu ajutorul microscopului electronic, diferențele dintre celule au devenit aparente. Termenul de **procariot** a fost introdus în 1937 de către Edward Chatton pentru a distinge celulele care nu au nucleu adevărat de celulele nucleate ale plantelor și animalelor. În 1961, Roger Stanier enunță definiția folosită și astăzi procariotelor „celule în interiorul cărora materialul nuclear (nucleoplasma) nu este înconjurat de o membrană nucleară". În 1968, pe baza observațiilor microscopice, Robert G.E. Murray propune regnul **Procaryotae**.

În 1969, Robert Whittaker a propus sistemul celor 5 regnuri:

1. **Procaryotae (Monera)**
2. **Protista**
3. **Fungi**
4. **Plantae**
5. **Animalia**

Împărțirea în aceste regnuri se bazează pe tipul și structura celulară, natura organizării corpului și tipul de nutriție.

Regnul **Procaryotae** (numit și Monera) include organisme unicelulare – **bacteriile**, care nu au un nucleu veritabil și care cuprind două subgrupe principale: **eubacterii** - bacterii cu structură celulară procariotă caracteristică și **archaeobacterii** – bacterii foarte vechi, adaptate mai ales condițiilor existente la începuturilor vieții terestre, cu o structură celulară și funcții atipice.

Bacteriile primitive au fost primele celule care au apărut pe Pământ şi strămoşii originari atât pentru bacteriile mai evoluate cât şi pentru organismele eucariote.

Regnul ***Protista*** cuprinde cea mai mare parte a microorganismelor eucariote unicelulare: alge microscopice şi protozoare.

Regnul ***Fungi*** este reprezentat de organisme uni- sau multicelulare eucariote.

Regnurile ***Plantae*** şi ***Animalia*** sunt reprezentate de organisme macroscopice.

Virusurile nu sunt incluse în nici o clasificare sau schemă evolutivă a sistemelor biologice. Virusurile sunt entități infecțioase care nu au echivalent în lumea vie. Particula virală posedă proprietăți distincte de cele ale bacteriilor şi mult mai îndepărtate de celula animală sau vegetală.

Microorganismele au jucat şi joacă un rol crucial în evoluția şi diversificarea vieții existente pe Pământ. Biologia modernă recunoaşte bacteriile ca populații pionier în lumea aceasta şi probabil în alte lumi. Rolul microorganismelor în evoluția tuturor formelor de viață este incontestabilă. Dintre microorganisme, bacteriile sunt organismele cele mai vechi de pe Pământ.

2.2. CLASIFICAREA LUMII VII ÎN 3 DOMENII

Tehnicile moderne de biologie moleculară au demonstrat că există două tipuri diferite de celule procariote şi un singur tip de celulă eucariotă.

Descoperirea celor trei tipuri de celule a fost bazată pe observația că ribozomii nu sunt la fel în toate celulele. Comparând secvența nucleotidelor din ARN-ul ribozomal din diferite tipuri de celule, s-a observat că există trei tipuri diferite de celule: eucariote şi două tipuri diferite de celule procariote – bacteriile şi archaea.

În 1978, Carl R. Woese a propus ridicarea celor trei tipuri de celule la un nivel deasupra regnului, numit domeniu: **Archaea, Bacteria, Eukarya**. Față de diferențele observate la nivelul ARN-ului ribozomal, cele 3 domenii diferă şi în ceea ce priveşte structura membranelor lipidice, transferul moleculelor de ARN, sensibilitatea la antibiotice.

Woese a considerat că bacteriile şi archaea, deşi asemănătoare în aparență, ar trebui să aibă un loc separat în arborele evolutiv (Fig. 11). În această schemă, animalele, plantele, fungii şi protistele sunt regnuri în Domeniul **Eukarya**.

Domeniul **Bacteria** include toate procariotele patogene precum și foarte multe procariote nepatogene care se găsesc în sol și apă. Procariotele fotoautotrofe sunt și ele incluse în acest domeniu.

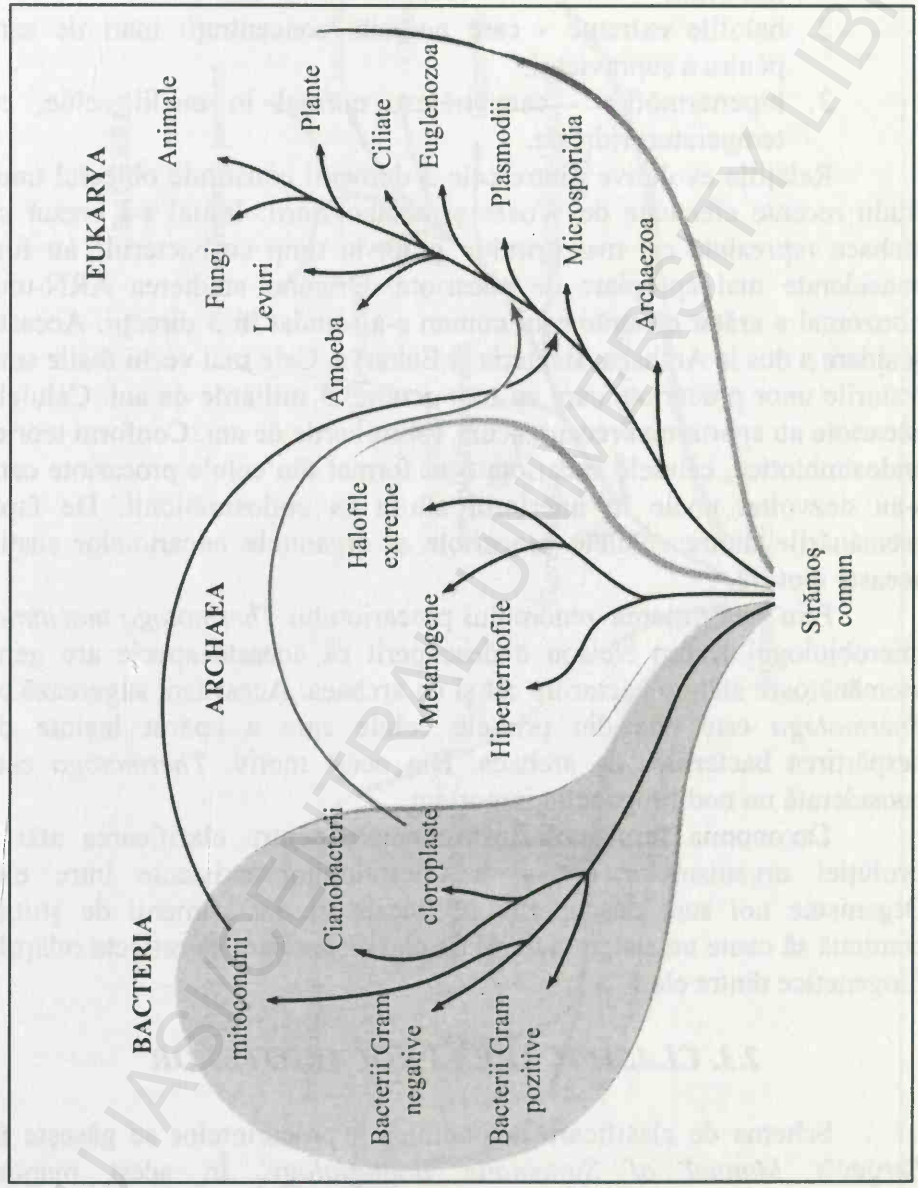


Fig. 11 – Sistemul celor trei domenii

Domeniul **Archaea** include procariotele care nu au peptidoglican în pereții celulari. Acestea trăiesc în condiții extreme și pot realiza

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

procese metabolice neobișnuite. În Archaea sunt cuprinse trei grupe importante:

1. metanogene – strict anaerobe, care produc metan din carbon și hidrogen;
2. halofile extreme - care necesită concentrații mari de sare pentru a supraviețui;
3. hipertermofile - care trăiesc normal în medii acide, cu temperaturi ridicate.

Relațiile evolutive dintre cele 3 domenii constituie obiectul unor studii recente efectuate de Woese și colaboratorii. Inițial s-a crezut că archaea reprezintă cel mai primitiv grup, în timp ce bacteriile au fost considerate mai apropiate de eucariote. Oricum, studierea ARN-ului ribozomal a arătat că strămoșul comun s-a scindat în 3 direcții. Această scindare a dus la Archaea, Bacteria și Eukarya. Cele mai vechi fosile sunt resturile unor procariote care au trăit acum 3,5 miliarde de ani. Celulele eucariote au apărut mai recent, acum 1,4 miliarde de ani. Conform teoriei endosimbiotice, celulele eucariote s-au format din celule procariote care s-au dezvoltat unele în interiorul altora ca endosimbionți. De fapt, asemănările dintre celulele procariote și organitele eucariotelor susțin această ipoteză.

Prin secvențierea genomului procariotului *Thermotoga maritima*, microbiologul Karen Nelson a descoperit că această specie are gene asemănătoare atât cu bacteriile cât și cu archaea. Acest fapt sugerează că *Thermotoga* este una din primele celule care a apărut înainte de despărțirea bacteriilor de archaea. Din acest motiv, *Thermotoga* este considerată un nod filogenetic important.

Taxonomia furnizează instrumentele pentru clarificarea atât a evoluției organismelor cât și a interrelațiilor existente între ele. Organisme noi sunt descoperite în fiecare zi, iar oamenii de știință continuă să caute un sistem natural de clasificare care să reflecte relațiile filogenetice dintre ele.

2.3. CLASIFICAREA PROCARIOTELOR

Schema de clasificare taxonomică a procariotelor se găsește în *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. În acest manual procariotele sunt divizate în două domenii Bacteria și Archaea (Fig. 12). Fiecare domeniu este divizat în filumuri. Clasificarea este realizată pe baza asemănărilor secvențelor nucleotidice ale ARN-ului ribozomal. Clasele sunt împărțite în ordine, ordinele în familii, familiile în genuri și genurile în specii.

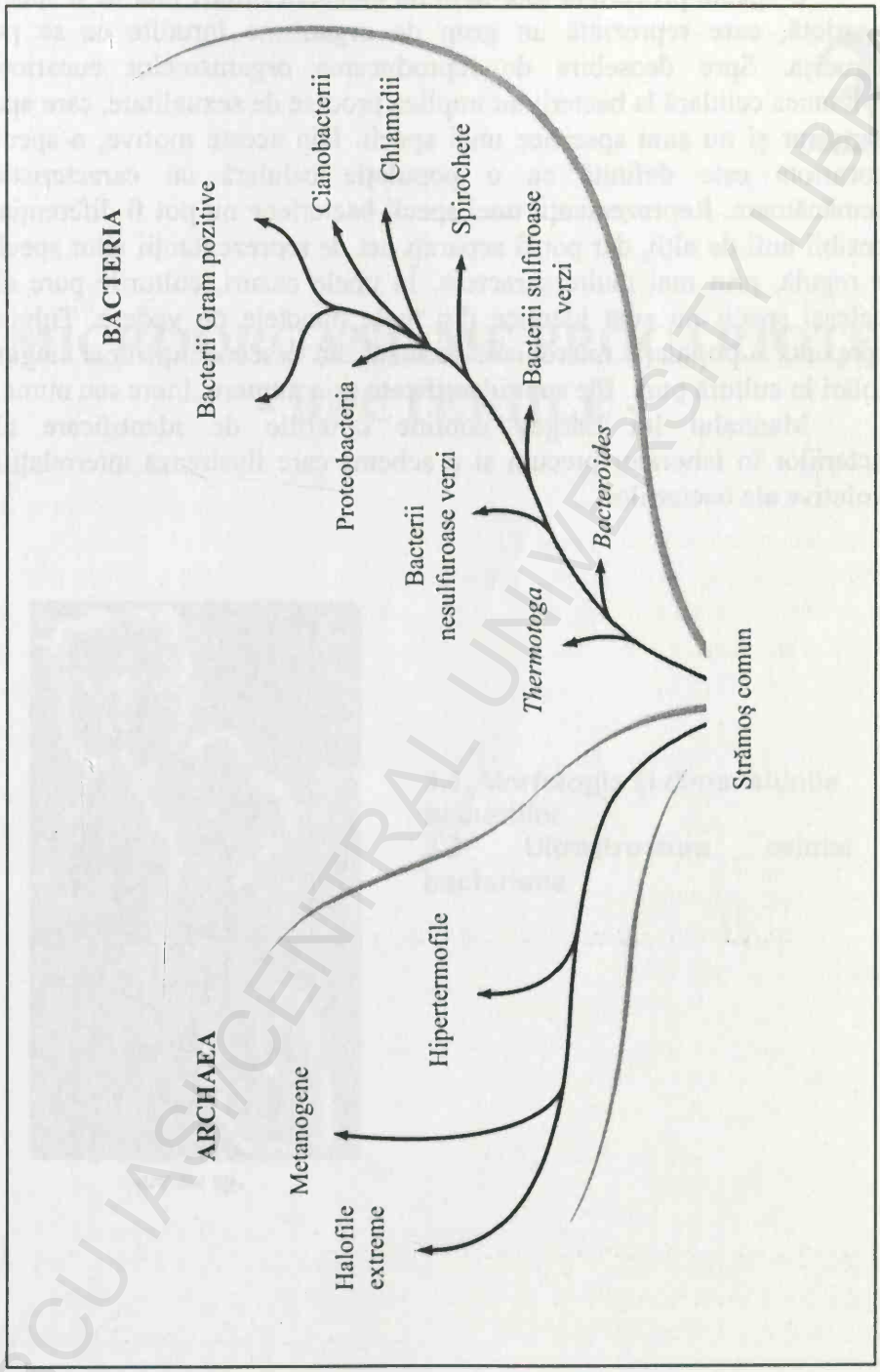


Fig. 12 – Relațiile filogenetice dintre procariote

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

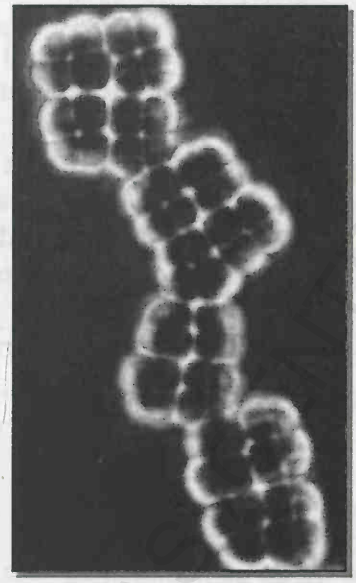
O specie procariotă este definită oarecum diferit față de o specie eucariotă, care reprezintă un grup de organisme înrudite ce se pot încrucișa. Spre deosebire de reproducerea organismelor eucariote, diviziunea celulară la bacterii nu implică procese de sexualitate, care apar foarte rar și nu sunt specifice unei specii. Din aceste motive, o specie procariotă este definită ca o populație celulară cu caracteristici asemănătoare. Reprezentanții unei specii bacteriene nu pot fi diferențiați sensibil unii de alții, dar pot fi separați net de reprezentanții altor specii, de regulă, prin mai multe caractere. În unele cazuri, culturile pure ale aceleași specii nu sunt identice din toate punctele de vedere. Tulpina reprezintă o populație microbiană formată din descendenții unei singure izolări în cultură pură. Ele sunt identificate prin numere, litere sau nume.

Manualul lui Bergey conține criteriile de identificare ale bacteriilor în laborator precum și o schemă care ilustrează interrelațiile evolutive ale bacteriilor.

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

3

MICROORGANISME PROCARIOTE
- BACTERIILE -



Sarcina sp.

3.1. Morfologia şi dimensiunile bacteriilor
3.2. Ultrastructura celulei bacteriene

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Bacteriile reprezintă un grup de microorganisme procariote, unicelulare, de dimensiuni microscopice, cu morfologie variată şi cu un echipament enzimatic mai mult sau mai puţin complex, în funcţie de specie.

3.1. MORFOLOGIA ŞI DIMENSIUNILE BACTERIILOR

Forma şi dimensiunile bacteriilor sunt elemente importante pentru diferenţierea şi clasificarea lor. Forma bacteriilor este controlată genetic. Deşi variază destul de mult în funcţie de condiţiile de mediu, polimorfismul acestor microorganisme este relativ limitat şi caracterizat prin predominanţa unei forme tipice pentru o specie dată.

Forma bacteriilor este greu de apreciat direct în mediile lor naturale. Morfologia bacteriilor se stabileşte, de obicei, pentru celulele cultivate în condiţii artificiale de laborator, caz în care forma celulelor poate fi influenţată de vârsta culturii, de compoziţia mediului, de temperatură etc. Datorită acestui fapt, forma bacteriilor, care reprezintă un criteriu taxonomic important, se apreciază în mod convenţional pe celule provenite din culturi tinere, în faza de creştere activă, pe medii de cultură corespunzătoare şi în condiţii optime de temperatură, tensiunea O_2, pH etc.

În culturile vechi, bacteriile sunt pe cale să degenereze sau să moară, apar celule cu forme aberante (cu aspect de Y, ramificate, filamentoase etc.), care se pot observa şi în cazul cultivării în condiţii necorespunzătoare de mediu: temperaturi nefavorabile, concentraţii mari de săruri anorganice etc.

După forma celulei, bacteriile pot fi grupate în următoarele tipuri morfologice (Fig. 13):

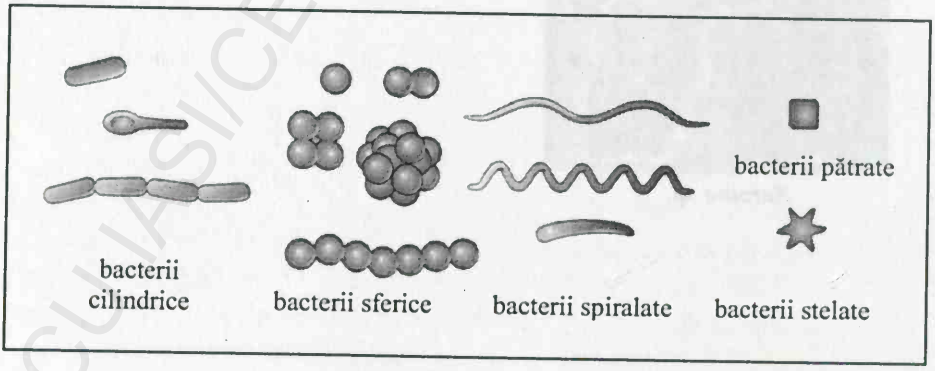


Fig. 13 – Principalele tipuri morfologice de bacterii

BCU IAŞI/CENTRUL UNIVERSITAR/LIBRARY

- bacterii sferice (cocoidale);
- bacterii cilindrice (bacilare);
- bacterii spiralate (elicoidale);
- bacterii filamentoase;
- bacterii pătrate.

3.1.1. Bacteriile sferice

Sunt bacteriile cunoscute sub numele generic de coci. Cocii pot fi perfect sferici (*Staphylococcus aureus*), elipsoidali (*Streptococcus viridans*), lanceolați (*Streptococcus pneumoniae*) sau reniformi (*Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*).

La majoritatea bacteriilor sferice, celulele fiice rezultate în urma procesului de diviziune nu se despart la sfârșitul diviziunii, ci formează grupări caracteristice cu valoare taxonomică.

În funcție de poziția celulelor fiice după diviziune, cocii prezintă următoarele șase subtipuri morfologice (Fig. 14):

a) când diviziunea cocilor se face după un singur plan, iar celulele fiice rămân izolate rezultă **micrococii** (*Micrococcus roseus*);
b) dacă diviziunea celulelor se face după planuri succesive paralele, celulele rămân atașate în perechi, formând **diplococii** (*Streptococcus pneumoniae*);
c) când diviziunea are loc tot după planuri succesive paralele, dar celulele rezultate formează lanțuri de lungimi variabile, ca un șirag de mărgele, rezultă **streptococii** (*Streptococcus pyogenes*);
d) în cazul în care planurile succesive de diviziune sunt perpendiculare unele față de altele, iar celulele rezultate sunt dispuse câte patru, se formează **tetracocii** sau **tetrada** (*Gafkia tetragena*);
e) când planurile de diviziune sunt orientate în trei direcții diferite, perpendiculare unul pe altul, rezultă o grupare sub formă de pachete cubice numită **sarcina** (*Sarcina flava, Sarcina aurantiaca*);
f) dacă diviziunea se face după mai multe planuri dispuse neregulat rezultă coci aranjați în formă de ciorchine sau **stafilococii** (*Staphylococcus aureus*).

BCU "VASILE GOLDIȘ" UNIVERSITY LIBRARY

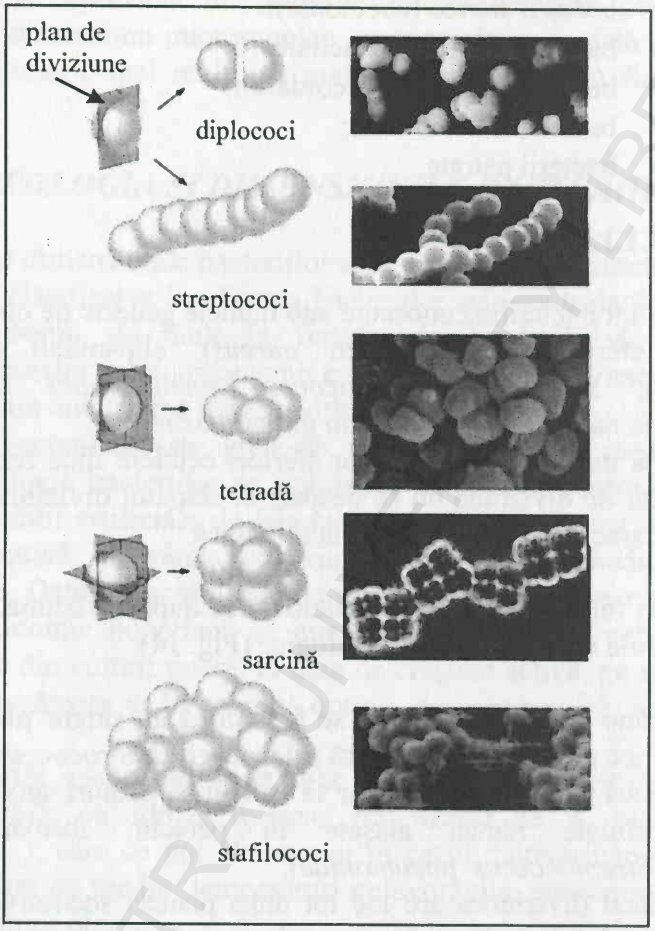


Fig. 14 – Modul de grupare al cocilor în urma diviziunii
(după Tortora, Funke, Case, 2002)

3.1.2. Bacteriile cilindrice

Sunt cunoscute sub denumirea de bacili sau bastonaşe şi au diametrul longitudinal de câteva ori mai mare decât cel transversal.

Forma bacililor prezintă unele variaţii care se referă la laturile şi extremităţile celulei. Bacilii sunt drepţi, uşor încurbaţi la mijloc sau la unul din capete. Extremităţile bacililor pot fi tăiate drept, ca la *Bacillus anthracis* (Fig. 15) sau rotunjite, ca la majoritatea bacililor (*Mycobacterium tuberculosis* – Fig. 16).

Marginile laterale ale bacililor sunt de regulă paralele, dar pot fi şi apropiate la extremităţi, dând bacilului aspectul de fus (*Fusobacterium fusiformis* – Fig. 17) sau îndepărtate şi rotunjite la una sau la ambele

extremități, dând bacilului aspectul de măciucă sau halteră (*Corynebacterium diphtheriae*).

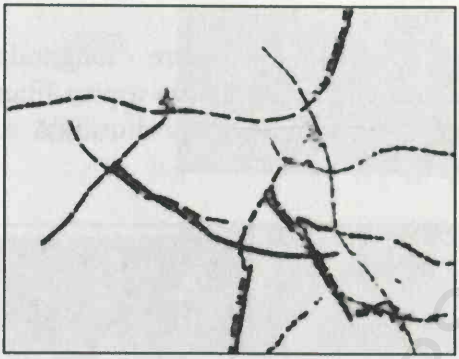


Fig. 15 – *Bacillus anthracis*

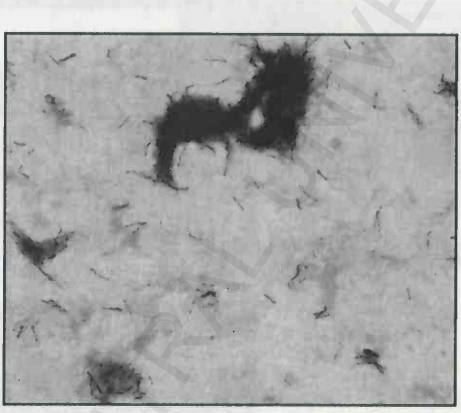


Fig. 16 – *Mycobacterium tuberculosis*

Fig. 17 – *Fusobacterium* sp.: imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În urma procesului de diviziune bacilii pot fi grupați câte doi (diplobacili), în lanțuri cu lungimi variabile (streptobacili) sau în palisadă (ca scândurile unui gard) – Fig. 18. Unii bacili formează grupări sub formă de rozetă sau stea.

Raportul dintre cele două diametre - longitudinal și transversal - variază mult, unele bacterii putând lua un aspect filamentos sau sferic – oval, fiind denumite cocobacili. Acestea din urmă sunt uneori greu de diferențiat de coci (Fig. 18).

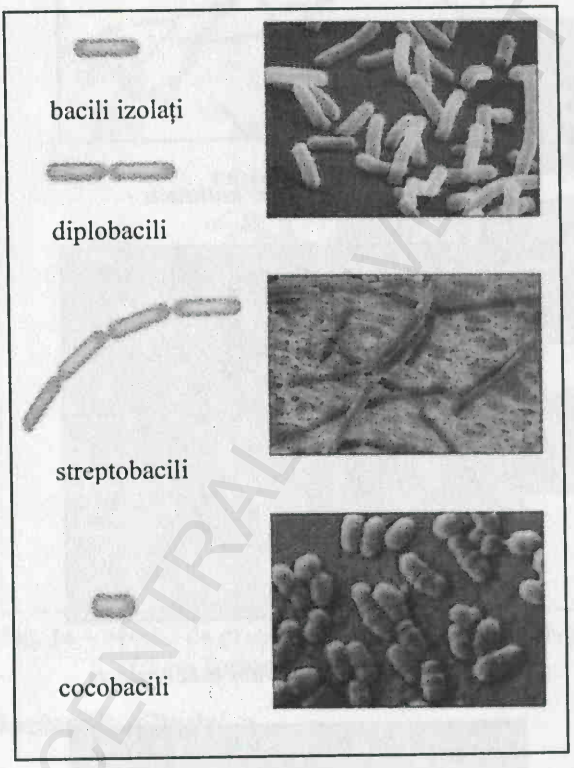


Fig. 18 – Modul de grupare al bacililor în urma diviziunii
(după Tortora, Funke, Case, 2002)

3.1.3. Bacteriile spiralate (elicoidale)

Aceste bacterii au formă cilindrică, alungită, dar prezintă curburi ale axului longitudinal. Se cunosc trei subtipuri morfologice (Fig. 19):

a) **vibrionul**, în formă de virgulă (*Vibrio cholerae*);
b) **spirilul**, în formă de spirală, cu mai multe ture de spiră rigide (*Spirillum volutans*);

c) **spirocheta**, în formă de spirală, cu mai multe ture flexibile, care se pot comprima sau relaxa (*Treponema pallidum*).

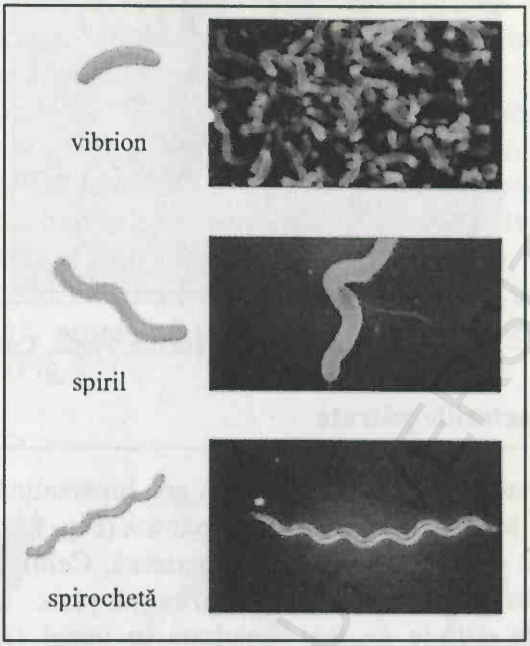


Fig. 19 – Tipuri de bacterii spiralate (după Tortora, Funke, Case, 2002)

3.1.4. Bacteriile filamentoase

Acest tip morfologic se întâlneşte la actinomicete (bacterii miceliene – Fig. 20) şi la *Sphaerotilus natans* (Fig. 21), la care celulele individuale se dispun în lanţuri reunite printr-o teacă netedă în care, în anumite condiţii favorabile, se depune hidroxid de fier sau de mangan.

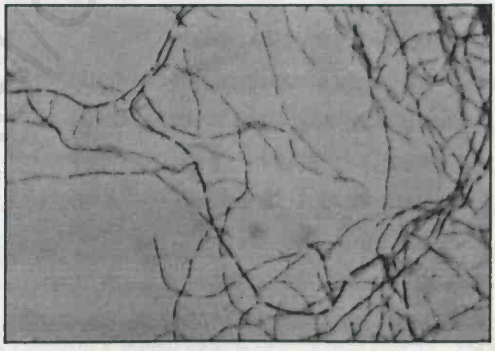


Fig. 20 – Miceliu de actinomicet

BCU IAŞI CENTRALĂ UNIVERSITY LIBRARY

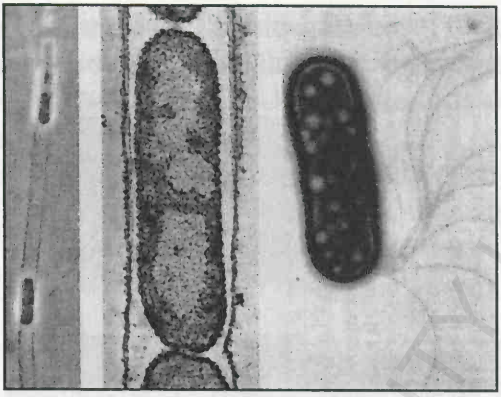


Fig. 21 – *Sphaerotilus natans* (după Tortora, Funke, Case, 2002)

3.1.5. Bacteriile pătrate

Aceste bacterii au fost izolate din apa hipersalină a unor bălţi din Peninsula Sinai în anul 1980. Au formă pătrată (Fig. 22), cu latura de 1,5 – 11 μm. Unele celule prezintă o teacă externă. Celulele se pot dispune uneori în pachete de 8 – 16 pătrate într-un singur plan.

Bacteriile pătrate au fost încadrate în genul *Quadra* şi aparţin probabil archaeobacteriilor.

3.1.6. Dimensiunile bacteriilor

Bacteriile au dimensiuni foarte mici, de ordinul micrometrilor ($1\mu m = 10^{-3}$ mm), din care cauză nu pot fi observate decât la microscop.

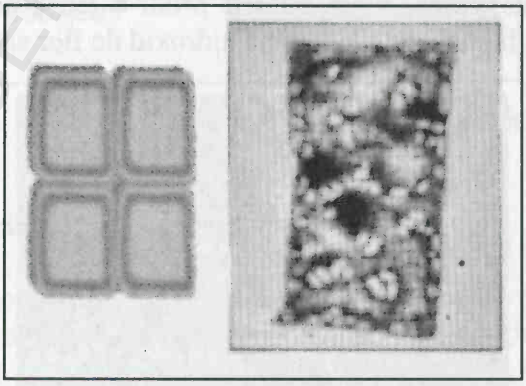


Fig. 22 – Morfologia bacteriilor: tipul pătrat (după Tortora, Funke, Case, 2002)

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În medie, dimensiunile bacteriilor sunt cuprinse între 0,5-1 μm x 3-6 μm. Cele mai mici ca dimensiune sunt nanobacteriile descoperite recent, cu dimensiuni de 0,02-0,03 μm; cele mai mari pot ajunge între 10-20 μm lungime, iar în cazul formelor filamentoase, în mod excepțional, chiar la 500 μm.

Dimensiunile cocilor variază între 0,2-2 μm; bacilii au lungimea de 0,5 – 10 μm și grosimea de 0,3 - 1,5 μm; spirilii și spirochetele au dimensiuni ce variază între 0,25 - 3,5 μm diametrul transversal și 6 - 100 μm diametrul longitudinal. Dimensiunile mici ale bacteriilor apar ca o condiție esențială pentru creșterea și multiplicarea lor rapidă, în comparație cu celulele eucariote, ceea ce le conferă un mare avantaj biologic în natură, asigurând supraviețuirea lor în comparație cu alte microorganisme (Fig. 23).

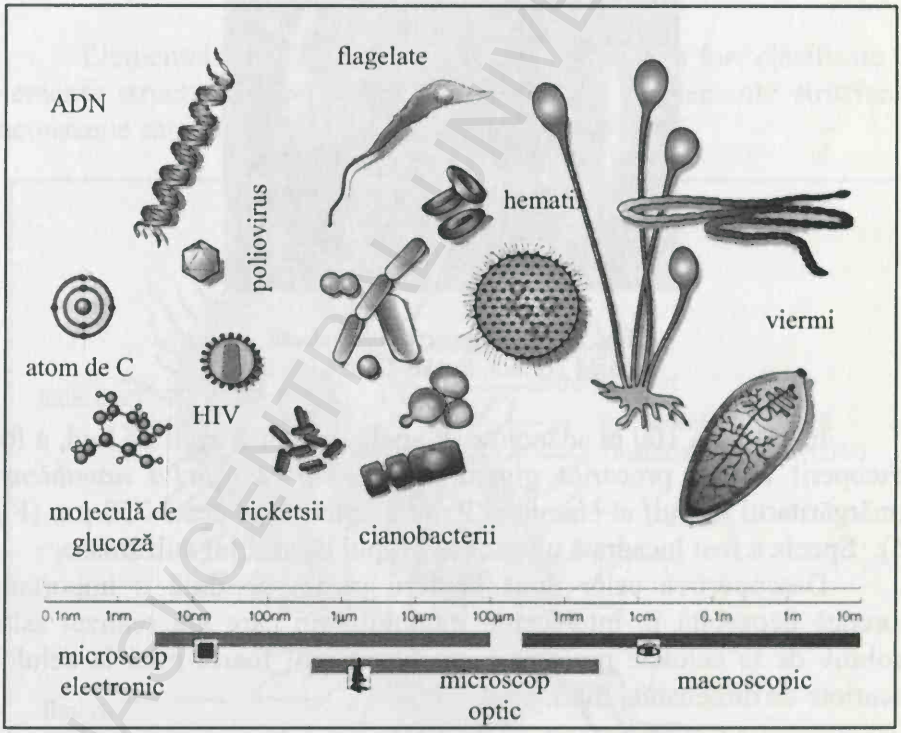


Fig. 23 – Comparație între dimensiunile diferitelor tipuri de organisme și molecule

Deși ideea dimensiunilor microscopice ale bacteriilor este unanim acceptată, descoperirea în anul 1991, în cavitatea bucală a unor pești din Marea Roșie, a speciei *Epulopiscium fishelsoni* (Fig. 24), a ridicat o serie

de probleme oamenilor de ştiinţă. Este vorba de un organism simbiotic, unicelular, de formă alungită, iniţial inclus în rândul protozoarelor datorită dimensiunilor aproape macroscopice: 80 μm x 600 μm (peste jumătate de milimetru lungime). Comparat cu *Escherichia coli* (1 μm x 2 μm), acest organism are volumul total mai mare de aproximativ 1 milion de ori. Studiile ulterioare au condus la obţinerea unor dovezi (flagelii asemănători cu cei întâlniţi la bacterii, absenţa membranei nucleare, ARN-ul ribozomal de tip bacterian), care demonstrează clar că specia *Epulopiscium fishelsoni* poate fi încadrată în rândul procariotelor. Mai mult, organismul seamănă cu bacteriile Gram-pozitive din genul *Clostridium*.

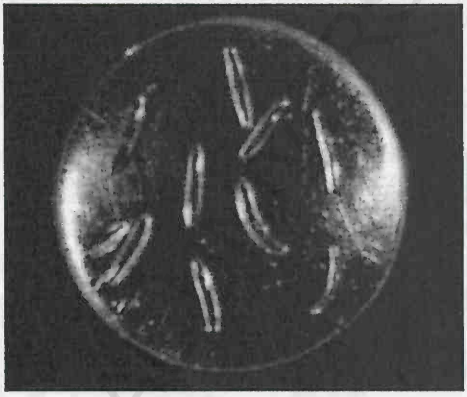


Fig. 24 – *Epulopiscium fishelsoni*
(după Tortora, Funke, Case, 2002)

În 1999, la 100 m adâncime în apele coastei Africii de Sud, a fost descoperit un alt procariot gigant, numit *Thiomargarita namibiensis* („mărgăritarul de sulf al Namibiei"), cu diametrul de peste 750 μm (Fig. 25). Specia a fost încadrată ulterior în grupul bacteriilor sulfuroase.

Descoperirea celor două bacterii gigant prezintă o importanţă teoretică deosebită în înţelegerea modului prin care s-a realizat saltul evolutiv de la celulele procariote cu dimensiuni foarte mici la celulele eucariote de dimensiuni mari.

3.2. ULTRASTRUCTURA CELULEI BACTERIENE

Descrierea constituenţilor structurali ai celulei bacteriene a fost posibilă datorită perfecţionării tehnicilor de studiu, în special cele de citochimie şi de microscopie electronică.

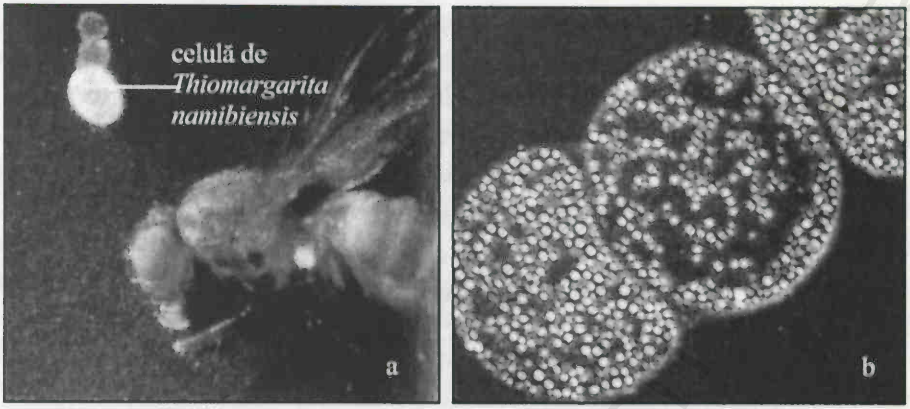


Fig. 25 – *Thiomargarita namibiensis*: a - comparație între dimensiunile celulei bacteriene și un individ adult de muscă domestică; b - detaliu (după Tortora, Funke, Case, 2002)

Elementele structurale ale celulei bacteriene au fost clasificate în: elemente structurale constante sau permanente și elemente structurale inconstante sau nepermanente (Fig. 26).

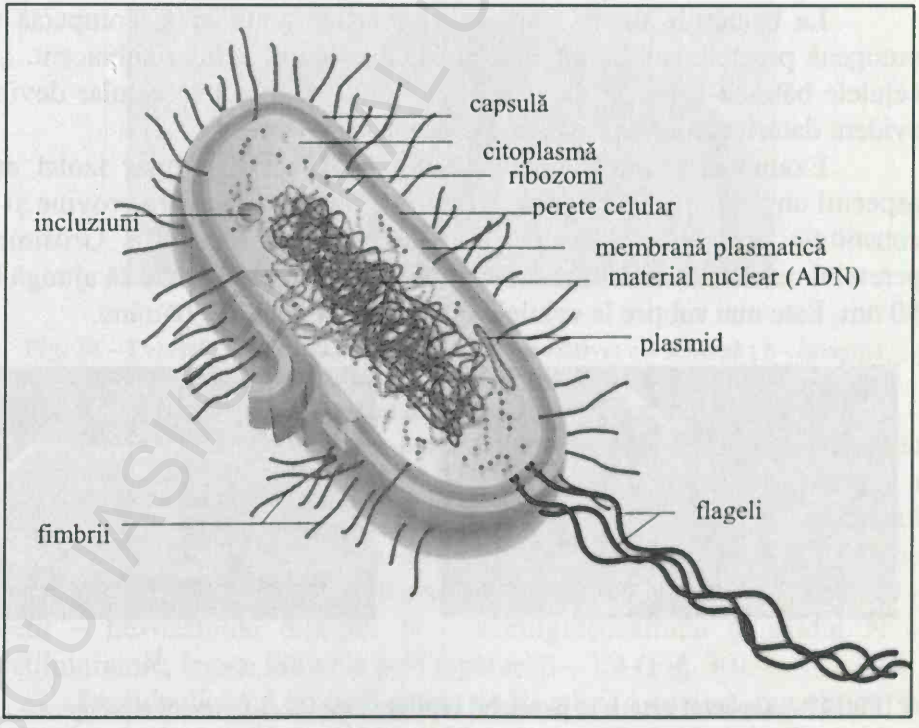


Fig. 26 – Ultrastructura celulei bacteriene

Elemente structurale constante:

- Peretele celular
- Membrana citoplasmatică
- Citoplasma
- Materialul nuclear
- Organitele citoplasmatice
- Incluziunile citoplasmatice

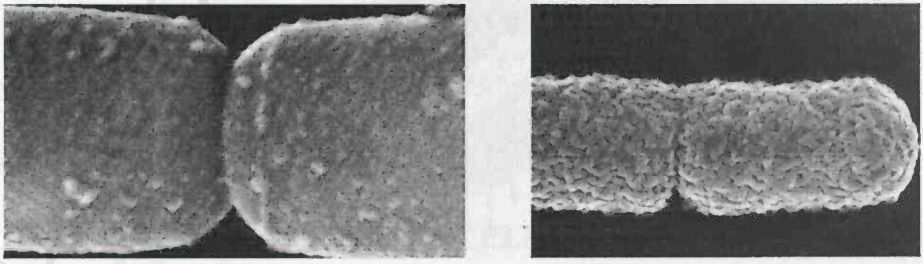
3.2.1. Peretele celular bacterian

Celula bacteriană este delimitată de un perete celular bine definit structural şi cu o consistenţă rigidă. Peretele acoperă membrana citoplasmatică şi poate fi la rândul său acoperit, la unele specii, de o capsulă sau de un strat mucos.

Datorită indicelui de refracţie mic, peretele celular este invizibil, ori foarte greu vizibil, la celulele vii examinate la microscopul fotonic. El poate fi pus în evidenţă prin colorare selectivă sau prin examinare la microscopul electronic.

La bacteriile tinere, care au citoplasmă abundentă, compactă şi omogenă peretele celular aderă intim la conţinutul celular subiacent. La celulele bătrâne însă, sau la cele în curs de liză, peretele celular devine evident datorită îndepărtării de citoplasmă.

Examinat la microscopul electronic, peretele celular izolat are aspectul unui sac gol, care conservă forma bacteriei din care provine şi o constituţie asemănătoare ochiurilor unei plase (Fig. 27). Grosimea peretelui celular variază între 15 – 35 nm, excepţional putând să ajungă la 80 nm. Este mai subţire la celulele tinere faţă de celulele bătrâne.



a b

Fig. 27 – Aspectul extern al peretelui celular: imagini electronomicroscopice – a - *Bacillus subtilis*; b - *Escherichia coli* (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Ultrastructura peretelui celular este diferită la cele două grupe mari de bacterii (clasificate în funcţie de afinităţile tinctoriale): bacterii Gram pozitive şi bacterii Gram-negative.

La bacteriile Gram-pozitive peretele celular apare la microscopul electronic ca un strat unic, omogen (Fig. 28 – a,b). Componentul care se găseşte în cea mai mare parte în peretele celular al acestor bacterii (80-90 % din greutatea uscată a celulei) este **peptidoglicanul** sau **mureina** (Fig. 29). În afara acestui component, peretele celular mai conţine proteine, polizaharide şi **acizi teichoici** (Fig. 29).

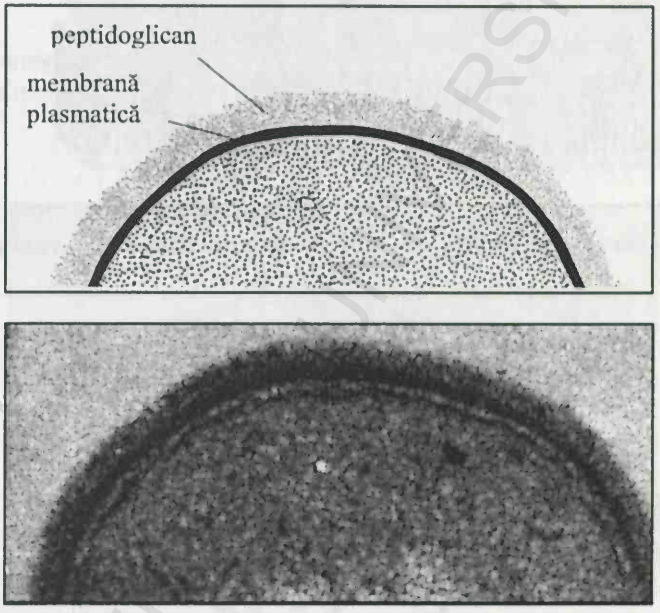


Fig. 28 – Peretele celular la bacteriile Gram-pozitive: a - schemă ; b - imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Peptidoglicanul este un component parietal comun, caracteristic tuturor bacteriilor, cu excepţia celor din genul *Mycoplasma* şi a bacteriilor halofile extreme. Din punct de vedere chimic peptidoglicanul este un heteropolimer compus dintr-o porţiune glicanică şi o porţiune peptidică. Porţiunea glicanică, foarte uniformă, este formată din două N – acetil – hexozamine diferite: N – acetilglucozamina şi acidul N – acetilmuramic, legate între ele prin legături β – 1,4 (Fig. 30).

Peptidoglicanul poate fi atacat de lizozim (o enzimă mucolitică) şi de antibioticul penicilină. Lizozimul atacă specific legăturile glicozidice β – 1,4, determinând liza celulelor.

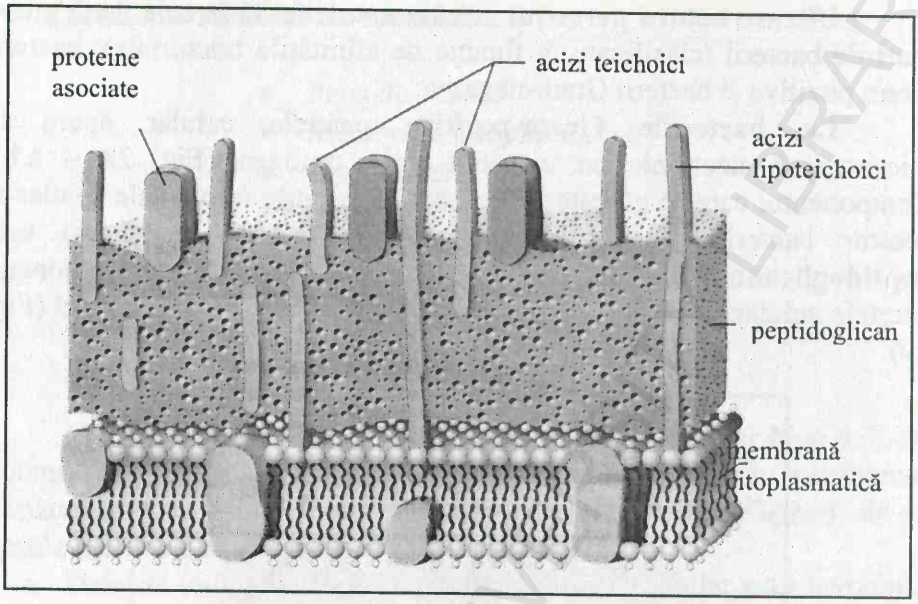


Fig. 29 – Structura chimică a peretelui celular la bacteriile Gram-pozitive

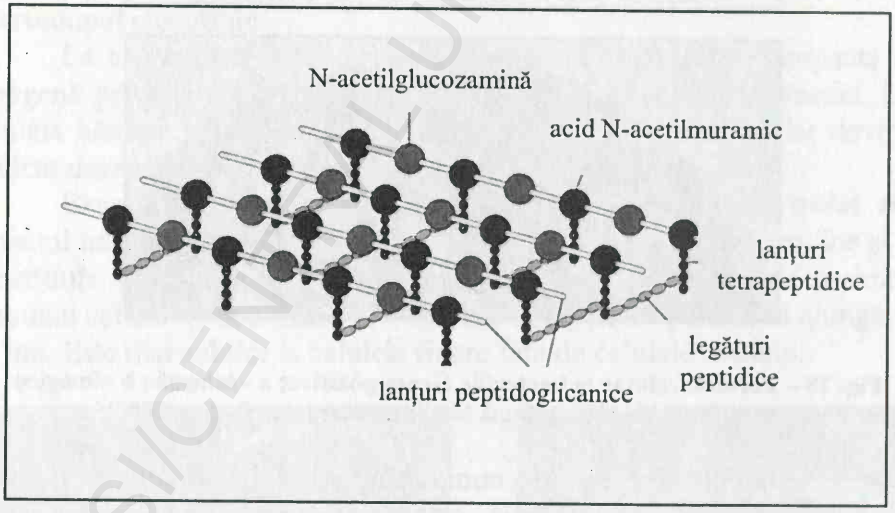


Fig. 30 – Structura chimică a stratului de peptidoglican din peretele celular al bacteriilor Gram-pozitive

Acizii teichoici (grec. *teichos* = zid, perete) sunt prezenți numai în peretele celular al bacteriilor Gram-pozitive, conferindu-le o serie de proprietăți importante: pentru că sunt încărcați electric negativ, acizii teichoici sunt parțial responsabili de încărcarea negativă a suprafeței celulare, influențând pasajul ionilor la nivelul peretelui celular. Unii acizi

teichoici sunt legați de lipidele membranei plasmatice, fiind numiți și acizi lipoteichoici.

La bacteriile Gram-negative peretele celular este mai subțire, dar are o structură mai complexă (Fig. 31).

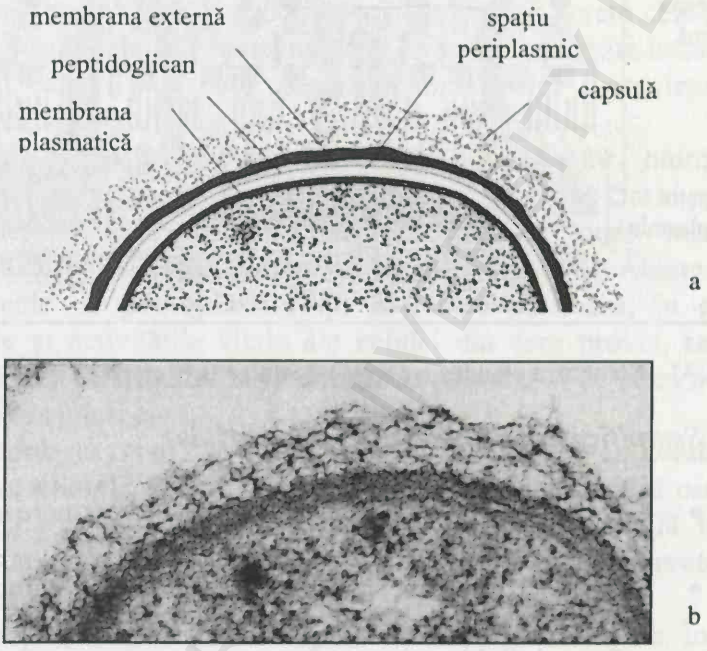


Fig. 31 – Peretele celular la bacteriile Gram-negative: a - schemă; b - imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

El este alcătuit din următoarele structuri: **complexul peptidoglican – lipoproteine,** care reprezintă 2 – 10 % din greutatea peretelui celular și are o compoziție chimică foarte asemănătoare la toate bacteriile Gram-negative; **membrana externă** a peretelui celular, cu o grosime de 6-20 nm, formată din fosfolipide, proteine și lipopolizaharide (LPS); **spațiul periplasmic** sau **periplasmatic** întâlnit numai la bacteriile Gram-negative, cuprins între membrana ciotplasmatică și membrana externă a peretelui celular (Fig. 32). În spațiul periplasmic se depozitează un număr mare de enzime și pigmenți. Enzimele au rolul de a hidroliza substanțele nutritive pătrunse prin porii membranei externe, pregătindu-le pentru transportul activ prin membrana citoplasmatică.

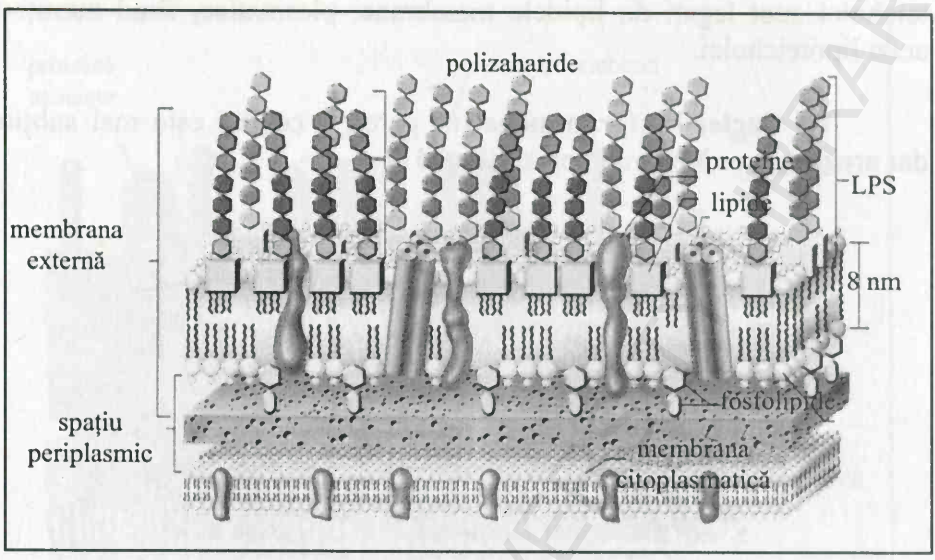


Fig. 32 – Structura chimică a peretelui celular la bacteriile Gram-negative

Semnificația biologică a peretelui celular

- Peretele celular reprezintă sistemul de susținere mecanică a întregii celule.
- Datorită rigidității sale determină forma caracteristică a celulelor bacteriene şi o apără de acțiunea factorilor nefavorabili de mediu.
- Asigură protecția celulei față de şocul osmotic; presiunea osmotică internă a celulelor bacteriene este de aproximativ 5 – 6 atmosfere; la bacteria *Escherichia coli*, de exemplu, este de 20 – 30 atmosfere; fără suportul rigid al peretelui celular, membrana plasmatică nu ar putea rezista acestei presiuni interne.
- Participă la procesul de creştere şi diviziune celulară, urmând membrana citoplasmatică în formarea septului transversal care separă celula mamă în cele două celule fiice.
- Datorită porilor, peretele celular permite pătrunderea în celulă a substanțelor nutritive şi eliminarea substanțelor rezultate din metabolism.
- Participă indirect la deplasarea bacteriilor ciliate, constituind suportul rigid pe care se sprijină flagelii în contracție.

- Conține substanțele care dau specificitatea antigenică a celulelor și receptorii specifici pentru fixarea bacteriofagilor (virusuri care parazitează bacteriile).

Protoplaștii și sferoplaștii

Unele bacterii sunt în mod normal lipsite de perete celular. Așa sunt, de exemplu, micoplasmele, un grup de bacterii parazite intracelular. Izotonismul celulei parazitate asigură micoplasmelor supraviețuirea în lipsa peretelui celular.

Dacă se tratează cu lizozim (enzimă care hidrolizează peptidoglicanul din peretele celular) celulele bacteriene Gram-pozitive, peretele celular este distrus integral. Rămâne doar membrana citoplasmatică ce menține forma aproximativ sferică. Aceste forme poartă numele de **protoplaști** (Fig. 33), care păstrează, în general, proprietățile și activitățile vitale ale celulei din care provin, respectiv capacitatea respiratorie normală, sinteza de proteine și de acizi nucleici, viabilitatea în culturi etc.

Protoplaștii nu-și mai pot reface prin sinteză peretele celular dacă acesta a fost complet distrus. În acest caz, funcția de barieră osmotică, asigurată de membrana citoplasmatică, este mult mai labilă în lipsa peretelui celular rigid și ca urmare, în medii hipotonice protoplaștii lizează.

Protoplaștii nu se pot multiplica decât pe medii solide. În aceste condiții, diviziunea lor este anarhică, rezultând celule de mărimi diferite, cu un conținut variabil de ADN.

La bacteriile Gram-negative peretele celular bacterian nu poate fi degradat complet sub acțiunea lizozimului ci, îi slăbește numai structura. La aceste bacterii lizozimul nu distruge decât pătura de mureină, membrana externă a peretelui celular rămânând aproape intactă. În medii hipotonice celulele astfel tratate lizează, iar în medii hipertonice se transformă în **sferoplaști** (Fig. 34). Aceștia se deosebesc de protoplaști prin aceea că peretele lor celular este numai parțial distrus. Sferoplaștii pot fi obținuți și prin tratarea celulelor bacteriene, în curs de multiplicare, cu penicilină. Acest antibiotic inhibă sinteza mureinei, iar sferoplaștii astfel obținuți sunt capabili să se multiplice în medii lichide. În cursul multiplicării lor succesive sferoplaștii își pot pierde membrana externă și devin protoplaști.

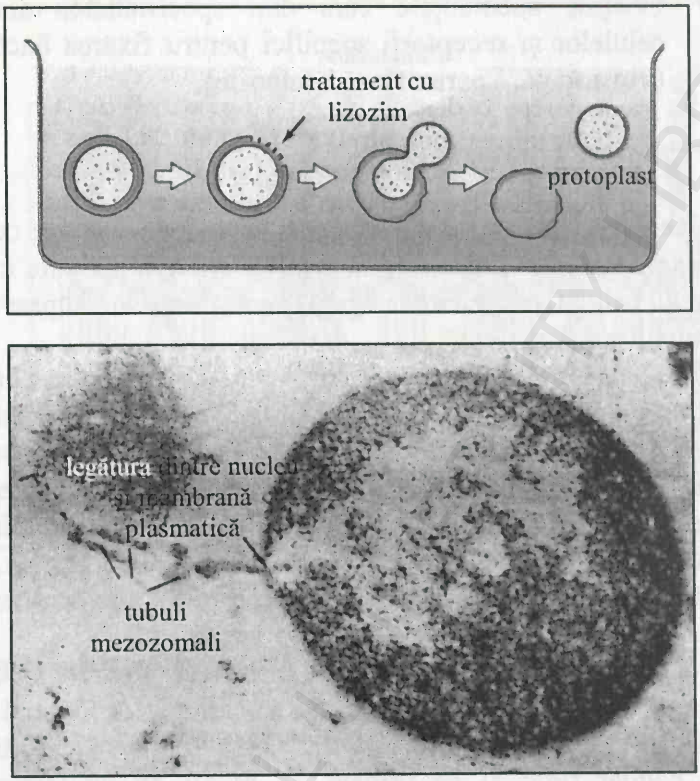


Fig. 33 – Protoplaşti: a - modul de formare; b - aspectul electronomicroscopic al protoplastului la *Bacillus subtilis* (după Zarnea, 1983)

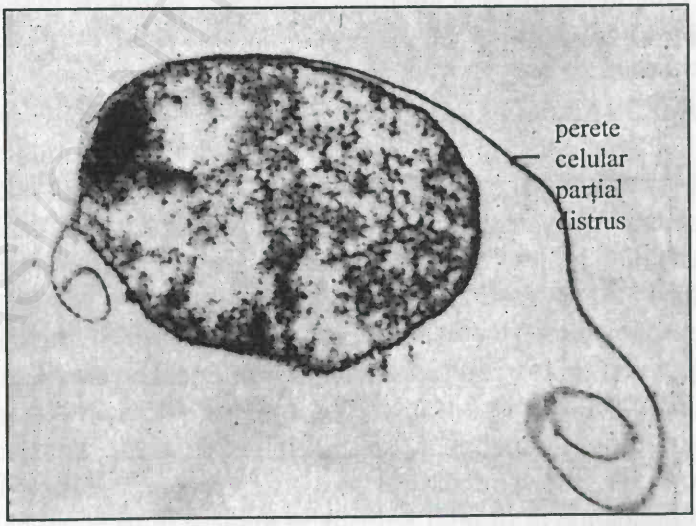


Fig. 34 – Secțiune printr-un sferoplast (după Zarnea, 1983)

Dacă protoplaştii sau sferoplaştii provin din celule ciliate, mobile, ei îşi păstrează cilii dar nu mai sunt mobili, fapt ce dovedeşte rolul peretelui celular ca suport mecanic în mobilitatea bacteriilor. Dacă provin din celule intrate în sporogeneză îşi păstrează capacitatea de a termina procesul de sporulare. Protoplaştii nu pot fixa bacteriofagii, în timp ce sferoplaştii îi pot fixa.

3.2.2. Membrana citoplasmatică

Membrana citoplasmatică acoperă citoplasma celulei bacteriene, separând-o de suprafaţa internă a peretelui celular de care este, de obicei, strâns lipită.

Poate fi pusă în evidenţă şi la microscopul fotonic, după o colorare selectivă cu albastru Victoria sau fără colorare, la bacteriile vii examinate în câmp întunecat, caz în care apare ca o linie netă, luminoasă, strălucitoare.

La microscopul electronic, pe secţiuni ultrafine, membrana citoplasmatică prezintă o structură tristratificată, tipică tuturor membranelor biologice: două foiţe opace la electroni, care delimitează o foiţă internă electronotransparentă (Fig. 35). Grosimea membranei citoplasmatice este de 7,5 – 10 nm şi nu prezintă pori. Din punct de vedere chimic este formată din proteine, lipide şi glucide.

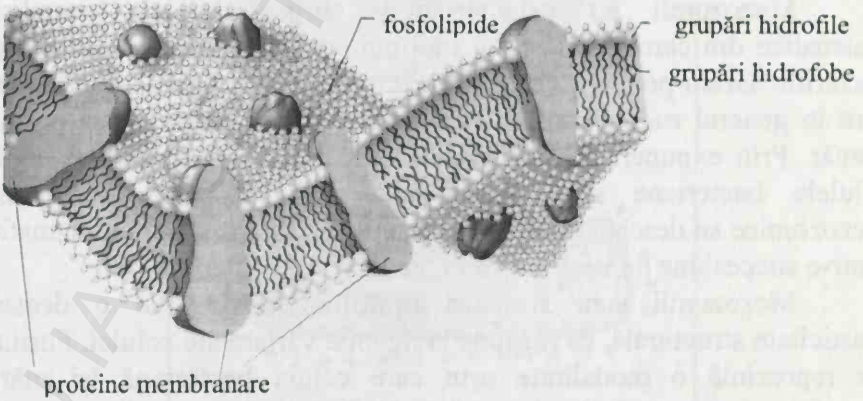


Fig. 35 – Ultrastructura membranei citoplasmatice

Membrana citoplasmatică este prevăzută cu numeroase invaginări de formă veziculară, lamelară sau tubulară care pătrund în citoplasmă. Aceste invaginări sunt denumite **mezozomi** (Fig. 36) şi împreună cu

membrana citoplasmatică din care derivă formează sistemul membranar unic sau "**unit membrana**".

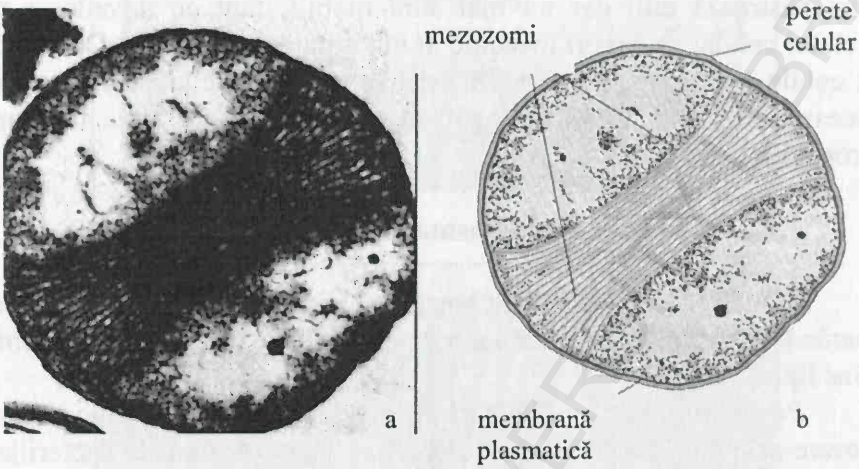


Fig. 36 – Mezozomi la *Nitrococcus oceanus*: a - imagine electronomicroscopică; b - schemă (după Lim, 1998)

Suprafața membranei citoplasmatice nu este în raport direct cu mărimea celulei. Există însă un raport direct între suprafața totală a membranei (cu toate invaginările ei) și intensitatea activității metabolice. Datorită sistemelor enzimatice pe care le conține, ea are importante funcții în metabolismul energetic. La celulele eucariote aceste funcții sunt îndeplinite de organite specializate (mitocondriile).

Mezozomii au caracteristicile structurale ale membranei plasmatice din care derivă. Sunt mai numeroși și mai bine dezvoltați la bacteriile Gram-pozitive comparativ cu bacteriile Gram-negative unde sunt în general rudimentari, slab dezvoltați ca mărime și mai puțini ca număr. Prin expunere în medii hipertonice sau prin tratare cu lizozim, celulele bacteriene sunt transformate în protoplaști, iar pungile mezozomice se deschid și eliberează unul sau mai mulți tubuli constituiți dintr-o succesiune de vezicule mici, ca un șirag de perle.

Mezozomii sunt structuri multifuncționale. Au o deosebită plasticitate structurală, ca răspuns la nevoile variate ale celulei. Formarea lor reprezintă o modalitate prin care celula bacteriană își mărește suprafața membranei citoplasmatice, în funcție de condițiile de mediu. De aceea, se consideră că nu ar avea funcții diferite față de cele ale membranei plasmatice.

Mezozomii sunt legați atât de membrana plasmatică, cât și de materialul nuclear, având rol important în controlul replicării

cromozomului bacterian. Mezozomii sunt implicați și în sinteza membranei plasmatice, a peretelui celular și a septului transversal care separă celulele după diviziune.

Semnificația biologică a membranei citoplasmatice

- Membrana citoplasmatică reprezintă o componentă permanentă a celulei bacteriene, având rolul de a delimita spațiul intracelular.
- Pentru celula bacteriană membrana citoplasmatică reprezintă o **barieră osmotică semipermeabilă**, ce asigură o rapidă echilibrare a ionilor de sodiu între interiorul și exteriorul celulei, o concentrare intracelulară a ionilor de potasiu și magneziu, precum și pătrunderea sau evacuarea unor molecule de dimensiuni mici (Fig. 37).

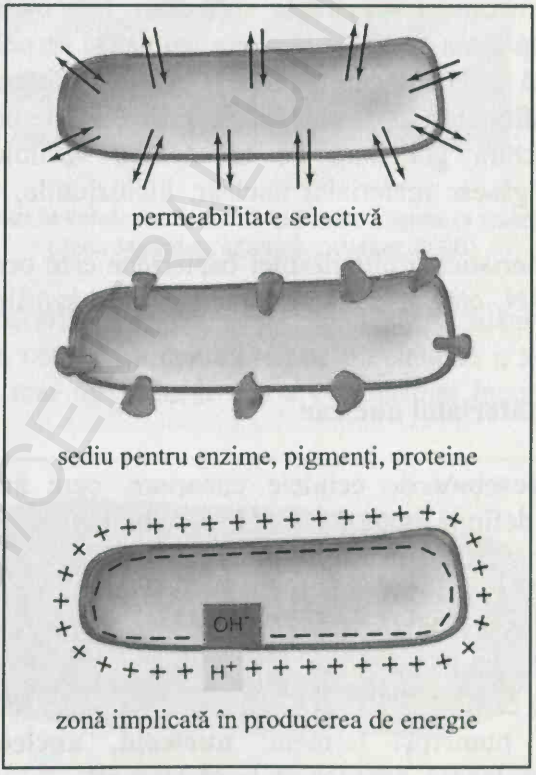


Fig. 37 – Principalele funcții ale membranei plasmatice

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- Membrana citoplasmatică este sediul a numeroase enzime respiratorii, reprezentând o importantă structură cu rol energetic (Fig. 37).
- Membrana citoplasmatică coordonează creşterea şi diviziunea celulară, iniţiind replicarea cromozomului bacterian şi asigurând separarea cromozomilor fii, prin formarea septului transversal de diviziune.

3.2.3. Citoplasma

Citoplasma este un sistem coloidal complex format din proteine, lipide şi glucide, apă (80 %), săruri minerale şi o serie de substanţe de altă natură. În general este lipsită de curenţi intracitoplasmatici.

Citoplasma bacteriană nu are o organizare definită, similară celei din celulele eucariote, care conţine organite diferenţiate şi delimitate de membrane. Aspectul ei este variabil în funcţie de vârsta culturii şi de condiţiile de mediu. La celulele tinere şi în condiţii normale de dezvoltare, citoplasma aderă de peretele celular şi se prezintă ca o masă densă, omogenă şi intens colorabilă. La celulele bătrâne citoplasma îşi pierde treptat afinitatea tinctorială, se îndepărtează de peretele celular şi capătă o structură granulară cu numeroase vacuole. În interiorul citoplasmei se găsesc materialul nuclear, incluziunile, vacuolele şi alţi constituenţi.

O caracteristică a citoplasmei bacteriene este prezenţa unei mari cantităţi de ARN, care îi conferă caracterul de bazofilie, mai intens la celulele tinere.

3.2.4. Materialul nuclear

Spre deosebire de celulele eucariote, care au un nucleu cu structură bine definită, mărginit de o membrană, conţinând un număr definit de cromozomi capabili de diviziune mitotică, materialul nuclear bacterian are o formă primitivă de organizare, lipsit de membrană, situat în partea centrală a celulei şi care nu suferă modificări de tip mitotic în cursul ciclului de diviziune.

Datorită caracteristicilor sale particulare, această structură a fost desemnată cu numeroşi termeni: **nucleoid, nucleozom, material nuclear, nucleoplasmă, cromozom bacterian** etc.

Din punct de vedere chimic materialul nuclear conţine 60% ADN, 30% ARN şi 10% proteine. Se pare că ARN-ul şi proteinele contribuie la

BUASCENTRALUNIVERSITY LIBRARY

conservarea unității structurale a nucleoplasmei, în lipsa unei membrane proprii.

Evidențierea materialului nuclear bacterian, la microscopul fotonic, nu se poate face prin colorare selectivă decât după îndepărtarea ARN-ului citoplasmatic prin hidroliza acidă sau enzimatică cu ribonuclează. Cu ajutorul acestor tehnici, materialul nuclear apare sub diferite forme: granule sferice sau ovalare (Fig. 38), halteră, bastonașe izolate sau dispuse în V etc., reprezentând 5 – 16 % din volumul celulei.

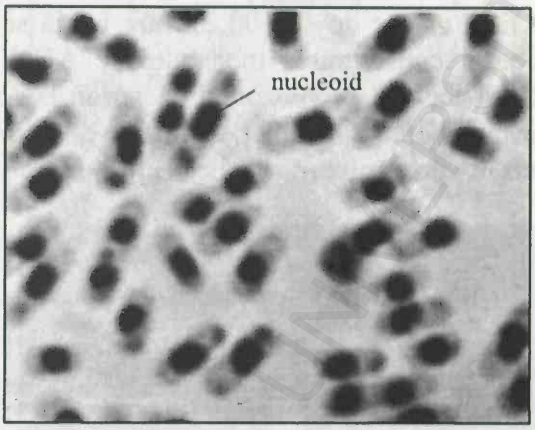


Fig. 38 – Nucleozi la celule de *Escherichia* coli: imagine la microscopul fotonic (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Pe micrografiile electronice se constată localizarea materialului nuclear în partea centrală a celulei. El se prezintă ca o zonă clară, cu o densitate medie mai mică decât cea a citoplasmei înconjurătoare (Fig. 39).

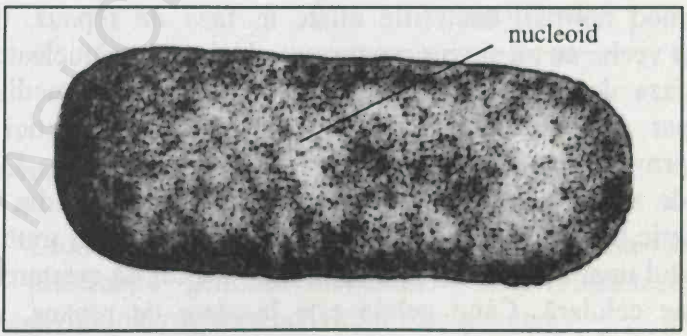


Fig. 39 – Materialul nuclear (nucleoidul) la *Escherichia coli*: imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Pe secțiuni ultrafine s-a observat că regiunea nucleară este plină cu filamente foarte fine, uneori aranjate în șiruri ondulate, paralele, care seamănă cu o jurubiță de ață, câteodată răsucită. Aceste filamente sunt formate din ADN și corespund cromozomului bacterian.

Prin metode speciale cromozomul bacterian a fost extras din celulă, constatându-se că este alcătuit dintr-o singură moleculă gigant (aproximativ 1 mm lungime la *Escherichia coli*) de ADN (Fig. 40), de formă circulară, cu extremitățile reunite, cu lungimea de 1400 μm și un diametru de 2,5 nm, pliat foarte strâns în două rânduri de bucle succesive. Buclele mari pot fi în număr de 40-100, fiecare buclă se pliază a doua oară, ceea ce duce la concentrarea moleculei de ADN la dimensiuni subcelulare. Cu toate acestea, cromozomul bacterian la *Escherichia coli* nu este un simplu superhelix, ci există peste 50 de domenii superhelicale stabilizate, cu ajutorul unor structuri proteice (Fig. 41).

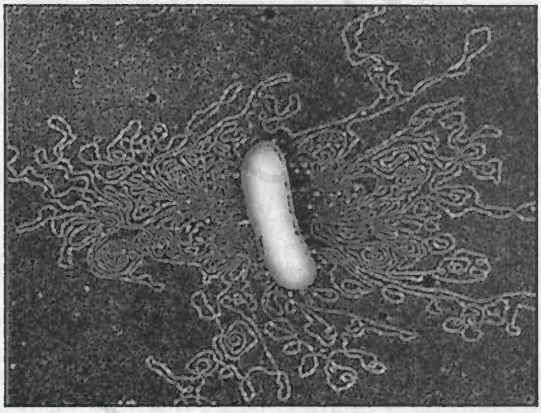


Fig. 40 – Cromozomul la *Escherichia coli* (după Tortora, Funke, Case, 2002)

În mod normal, bacteriile aflate în faza de repaus, în culturi staționare și vechi, au un singur cromozom, deci sunt uninucleate.

În faza de creștere activă, în culturi tinere, pe medii optime, celulele apar multinucleate, având 2-4 cromozomi, identici genetic, deoarece provin prin replicarea cromozomului parental. De aceea, indiferent de aspectul morfologic al materialului nuclear, din punct de vedere genetic bacteriile sunt haploide. Apariția bacteriilor multinucleate este rezultatul unei lipse de sincronizare între ritmul de creștere și ritmul de diviziune celulară. Când celula este în stare de repaus, viteza de replicare a materialului nuclear este proporțională cu viteza de creștere a celulei. În culturi tinere, ca și pe medii de cultură optime, replicarea ADN este accelerată, astfel că, nucleoidul se poate multiplica de mai multe ori,

înainte ca diviziunea celulară să se termine. Bacteriile multinucleate apar şi sub influenţa unor condiţii de mediu. Astfel, sub acţiunea penicilinei, care blochează sinteza mureinei din peretele celular, aceasta nu mai poate participa la formarea septului transversal de diviziune şi astfel apar celule filamentoase sau globuloase cu mai mulţi nuclei.

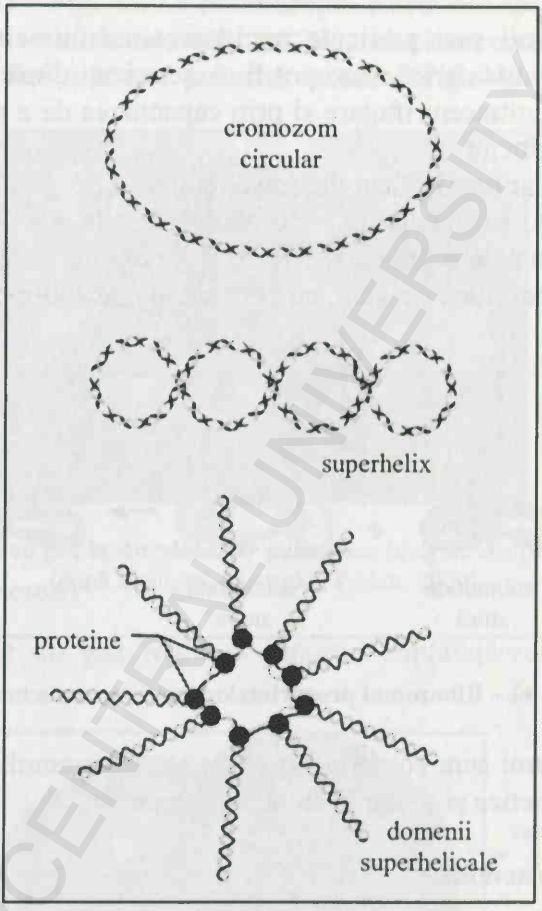


Fig. 41 – Modul de pliere al moleculei de ADN

Semnificaţia biologică a materialului nuclear

- Cromozomul bacterian poartă în structura sa întreaga informaţie genetică necesară pentru biosinteză, creştere, diviziune, reglarea activităţii celulare etc.
- Determină arhitectura celulei bacteriene, ereditatea şi capacitatea ei de evoluţie.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- Datorită lipsei membranei proprii, un contact direct între ADN şi ribozomii din citoplasmă face ca transferul informaţiei genetice să se realizeze foarte rapid.

3.2.5. Ribozomii

Ribozomii sunt particule nucleoproteice intracitoplasmatice, de formă aproximativ sferică, care pot fi caracterizaţi după constanta lor de sedimentare la ultracentrifugare şi prin capacitatea de a participa *in vitro* la sinteza proteinelor.

La procariote, în faza de creştere activă, se găsesc în citoplasmă 1500 – 100.000 (în medie 20 – 30.000) particule ribozomale, având în general constanta de sedimentare de 70 S şi tendinţa de a se disocia rapid în subunităţi mai mici, inegale, cu constantele de sedimentare de 30 S şi 50 S (Fig. 42).

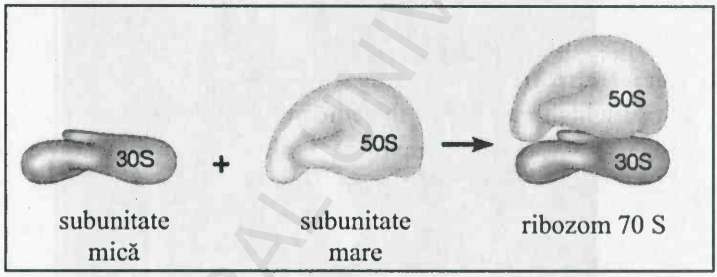


Fig. 42 – Ribozomul procariotelor: reprezentare schematică

Ribozomii sunt componenţi esenţiali ai sistemului de traducere a informaţiei genetice şi au rol în sinteza proteinelor.

3.2.6. Vacuolele

Vacuolele sunt formaţiuni sferice, cu diametrul de 0,3-0,5 μm, mai puţin refringente decât citoplasma, care apar în celula bacteriană în perioada de creştere activă.

Numărul lor este variabil în raport cu mediul de cultură (6-20/celulă). Conţin diferite substanţe dizolvate în apă şi sunt înconjurate la periferie de un înveliş lipoproteic unistratificat numit **tonoplast**.

După unii autori, vacuola ar constitui o entitate permanentă, absolut necesară celulei bacteriene, după alţii, ar fi o structură temporară care apare sub influenţa condiţiilor de mediu. După Knaysi (1951) vacuolele ar îndeplini rol de reglator al presiunii osmotice în raport cu

mediul sau depozite de substanțe de rezervă. Acestea sunt **vacuole cu suc celular.**

Vacuolele cu gaz (aerozomi sau corpi de flotație) sunt structuri de 100 nm diametru, prezente numai la procariote, fiind întâlnite la bacteriile imobile acvatice (cianobacterii, bacterii fotosintetizante purpurii și verzi) – Fig. 43. La microscopul electronic apar ca un organit compus dintr-o serie de vezicule cu gaz, al căror număr, aranjare și localizare determină mărimea și forma vacuolei (Fig. 44).

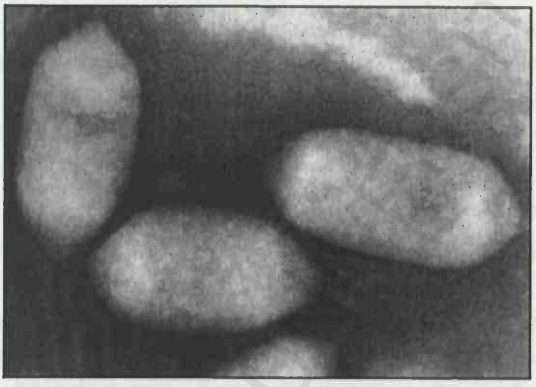


Fig. 43 – Vacuole cu gaz la *Ancylobacter aquaticus*: imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Vacuolele cu gaz reglează raportul suprafață/volum al celului bacteriene.

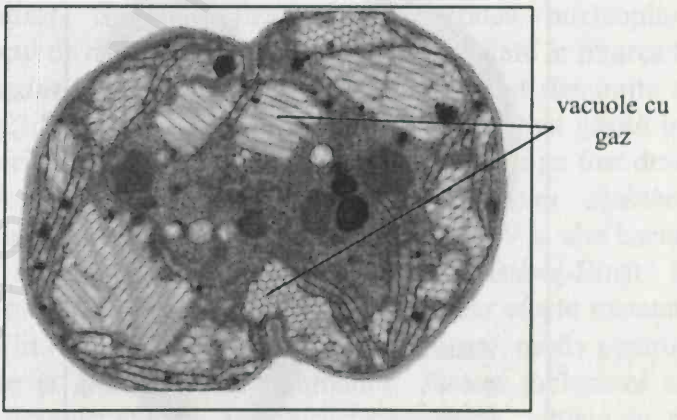


Fig. 44 – Vacuole cu gaz la *Microcystis* sp.: secțiune transversală (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Bacteriile care conţin vacuole cu gaz au o densitate globală mai mică decât apa şi de aceea plutesc la suprafaţa acesteia. La celulele care plutesc la suprafaţa "înfloririlor" din lacuri, vacuolele joacă un rol protector, de ecran, având şi un efect de dispersie al luminii, apărând structurile fotosensibile de expunere la intensitatea dăunătoare a luminii.

3.2.7. Incluziunile citoplasmatice

Incluziunile citoplasmatice sunt formaţiuni structurale ce conţin o serie de substanţe inerte, depuse în citoplasma celulei, cu rol de substanţe de rezervă. După structura lor, evidenţiată la microscopul electronic, ele sunt de două tipuri:

A - incluziuni înconjurate de membrane: incluziunile de poli-β-hidroxibutirat, incluziunile cu sulf şi carboxizomii;

B - incluziuni neînconjurate de membrane: incluziunile de polimeri anorganici, incluziunile polizaharidice, rhapidozomii şi magnetozomii.

Incluziunile de poli-β-hidroxibutirat sunt specifice numai procariotelor. Aceste incluziuni se observă uşor datorită gradului mare de refringenţă sau pot fi puse în evidenţă după o colorare specifică pentru grăsimi (negru de Sudan). În celulele vii apar ca granulaţii rotunde, foarte refringente şi reprezintă un material de rezervă tipic pentru procariote (Fig. 45).

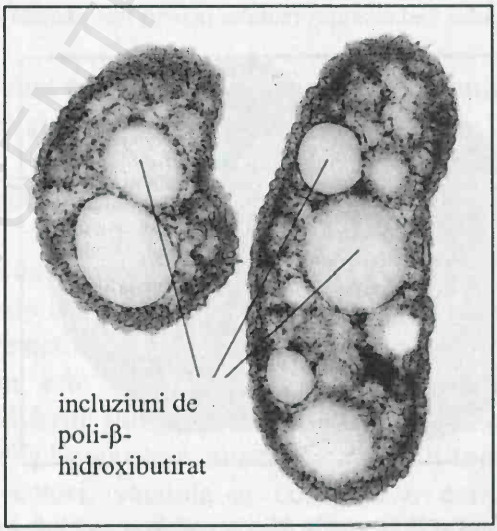


Fig. 45 – Incluziuni de poli-β-hidroxibutirat (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Incluziunile cu sulf apar sub forma unor corpusculi strălucitori, birefringenți, la două grupe ecologice de bacterii și anume: bacteriile sulfuroase purpurii (genul *Chromatium*) – Fig. 46 și bacteriile sulfuroase nepigmentate (genurile *Beggiatoa*, *Thiothrix*). Granulele de sulf se găsesc în cantități mari la bacteriile care cresc în medii bogate în hidrogen sulfurat și reprezintă un depozit, deoarece dispar prin oxidarea sulfului, dacă aceste bacterii sunt transferate într-un mediu sărac în hidrogen sulfurat.

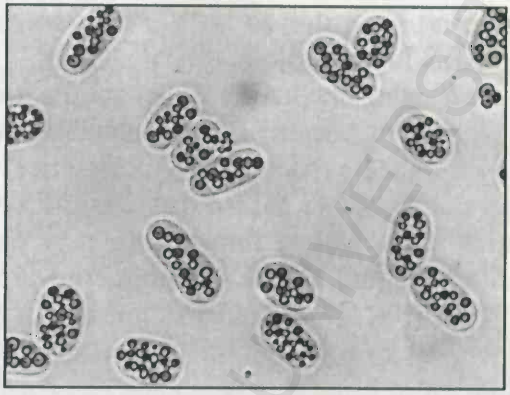


Fig. 46 – Incluziuni de sulf coloidal la *Chromatium buderi*
(după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Carboxizomii sunt incluziuni cu profil poliedric, în număr variabil (1-200), prezenți la bacteriile care fixează CO_2 pe calea pentozofosfaților. Sunt localizați în vecinătatea nucleoplasmei și reprezintă locul de depozitare a enzimelor cu activitate în fixarea CO_2.

Incluziunile de polimeri anorganici au fost denumite de către Grimm (1902) **incluziuni de volutină** deoarece au fost găsite în număr mare la bacteria *Spirillum volutans*. Aceste incluziuni au fost descoperite de către V. Babeș în 1897 la *Corynebacterium diphtheriae* și *Mycobacterium tuberculosis* și apoi de Ernst în 1899 la alte bacterii, fapt pentru care mai sunt numite și corpusculii Babeș-Ernst. Datorită conținutului mare în polifosfați anorganici produc efecte metacromatice (se colorează în roșu - violet cu albastru de metilen), motiv pentru care au fost denumite și granulații metacromatice. Aceste incluziuni apar sub forma unor granule sferice, fără structură internă, situate în regiunea nucleoplasmatică.

Granulele de volutină reprezintă o rezervă de fosfor și energie intracelulară.

Incluziunile polizaharidice cuprind incluziunile de glicogen şi amidon. Acestea se întâlnesc ca substanţe de rezervă la bacteriile aerobe sporulate. La microscopul fotonic pot fi observate după o prealabilă tratare a celulelor cu iod în iodură de potasiu. În aceste condiţii, incluziunile de glicogen se colorează în brun roşcat, iar cele de amidon în albastru, în contrast cu citoplasma care apare colorată în galben pal.

Rhapidozomii sunt particule ribonucleoproteice sub formă de bastonaşe scurte, rigide, intra- sau extracelulare, care pot fi eliminate din celule prin liza lor. Sunt întâlniţi la numeroase specii de mixobacterii şi la unele specii aparţinând genurilor *Proteus*, *Pseudomonas*, *Actinomyces*. Conţin proteine şi ARN în proporţii de 2:1.

Magnetozomii sunt incluziuni care conţin fier şi au rol în orientarea şi migrarea unor bacterii sub influenţa câmpurilor magnetice slabe. Se întâlnesc la unele bacterii magnetotactice din sedimentele marine sau de apă dulce. Nu se găsesc dispersaţi în celulă ci formează una, două formaţiuni intracelulare formate din 5-41 particule de formă cubică, cu colţurile rotunjite, situate în apropierea suprafeţei interne a membranei plasmatice (Fig. 47). Magnetozomii conţin fier sub formă de magnetită. Ei acţionează ca o busolă biomagnetică, asigurând orientarea şi deplasarea bacteriilor în câmpurile magnetice.

Elemente structurale inconstante:

- Capsula şi stratul mucos
- Glicocalixul
- Flagelii
- Pilii şi fimbriile
- Sporul
- Cromatoforii

Aceste elemente apar doar la unele specii bacteriene.

3.2.8. Capsula şi stratul mucos

Unele bacterii au proprietatea de a elabora, în anumite condiţii de mediu, substanţe macromoleculare cu caracter vâscos, gelatinos – mucos.

După unii autori, această proprietate ar exista potenţial la toate bacteriile, dar s-ar manifesta regulat numai la unele specii, în timp ce la altele s-ar traduce doar prin prezenţa unei formaţiuni foarte bine organizate, invizibilă cu mijloacele uzuale de cercetare.

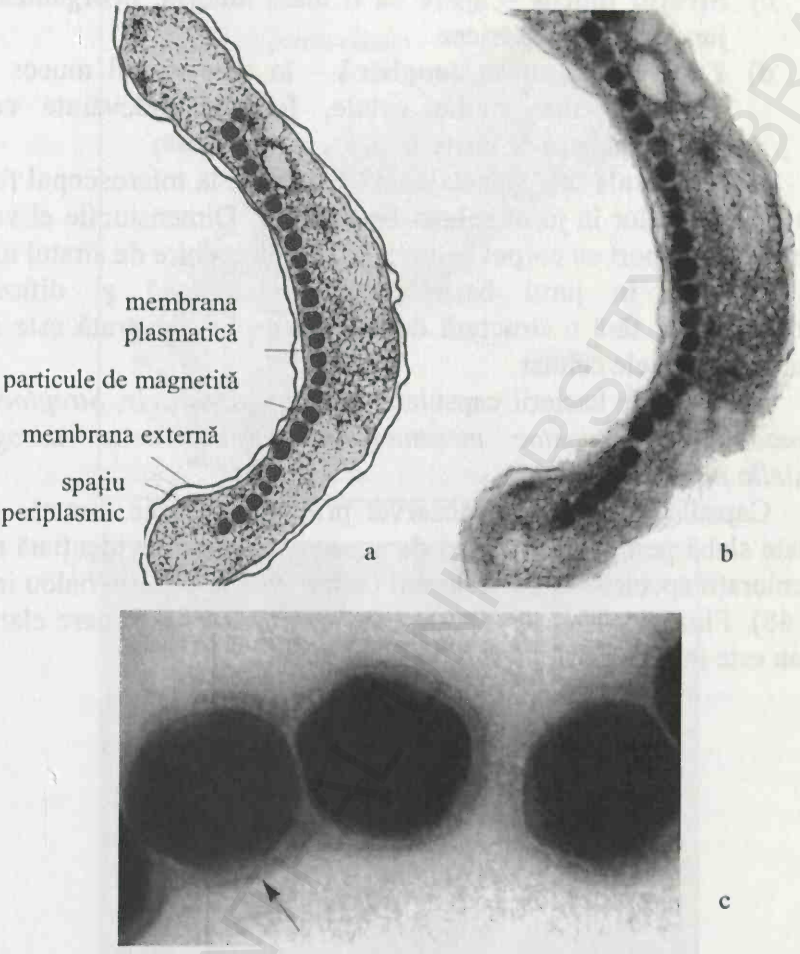


Fig. 47 – Magnetozomi la *Aquaspirillum magnetotacticum*: a - schemă; b - imagine electronomicroscopică; c - detaliu (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

În funcție de structura şi raporturile cu celula bacteriană substanța mucoidă se poate prezenta sub următoarele forme:

a) **Microcapsula** – la care substanța mucoidă alcătuieşte un strat foarte fin în jurul celulei bacteriene, având o grosime de 0,2 µm; nu poate fi observată la microscopul fotonic, dar este detectabilă prin metode imunologice.

b) **Macrocapsula** sau **capsula adevărată** – are o grosime ce depăşeşte 0,2 µm şi se prezintă ca o formațiune morfologic distinctă care înveleşte de jur-împrejur fiecare celulă sau perechi de celule.

BCU IASI - UNIVERSITY LIBRARY

c) **Stratul mucos** – apare ca o masă amorfă, neorganizată, în jurul celulei bacteriene.

d) **Zooglea** sau **masa zoogleică** – în care stratul mucos leagă între ele mai multe celule, formând adevărate colonii mucilaginoase de bacterii.

Macrocapsula sau capsula adevărată apare la microscopul fotonic ca un halou incolor în jurul celulei bacteriene. Dimensiunile ei variază foarte mult în raport cu corpul bacterian. Spre deosebire de stratul mucos, care formează în jurul bacteriilor o rețea laxă și difuză de exopolizaharide, fără o structură definită, capsula adevărată este strâns aderentă de peretele celular.

Exemple de bacterii capsulate: *Bacillus anthracis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*.

Capsula este greu de observat prin microscopie directă. Are o afinitate slabă pentru coloranți și de aceea ea poate fi evidențiată numai prin colorații speciale. După colorații uzuale ea apare ca un halou incolor (Fig. 48). Fiind puțin opacă pentru electroni capsula nu apare clar (Fig. 49) sau este invizibilă la microscopul electronic.

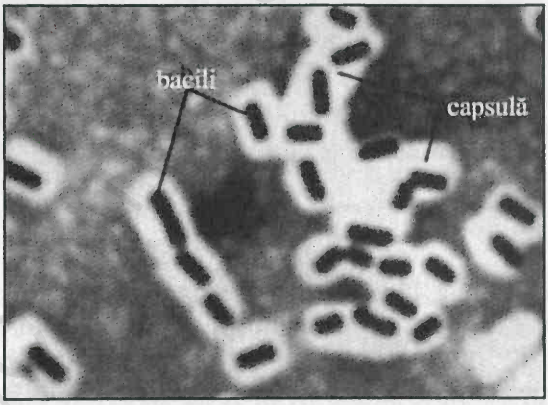


Fig. 48 – Capsula la *Klebsiella pneumoniae*: imagine la microscopul fotonic (după Wistreich, 1998)

Capsula și stratul mucos sunt în general de natură polizaharidică. În unele cazuri, capsula conține un singur tip de zahăr, ca de exemplu glucan la *Leuconostoc mesenteroides* sau heteropolizaharide ca la *Pseudomonas aeruginosa*. La *Bacillus anthracis* capsula este de natură polipeptidică.

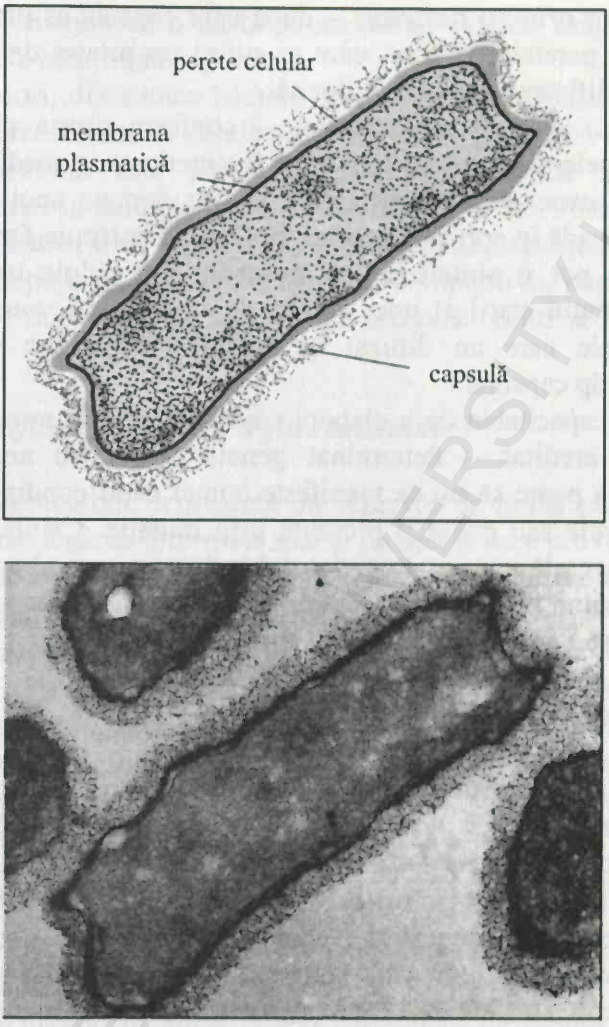


Fig. 49 – Capsula la *Klebsiella pneumoniae*: a - schemă; b - imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

În ceea ce priveşte originea capsulei şi a stratului mucos au existat mai multe ipoteze:

Ipoteza originii endocelulare – după care capsula nu ar face parte integrantă din celulă, ci ar fi un rezultat al activităţii metabolice, un produs de excreţie sau de secreţie care, datorită slabei solubilităţi în mediu, ar avea tendinţa de a se depune în jurul celulei. Această ipoteză nu explică în ce mod difuzează prin peretele celular moleculele mari de polizaharide capsulare.

Ipoteza originii parietale – după care capsula ar proveni dintr-o modificare a peretelui celular, care ar suferi un proces de hipertrofiere însoțită de gelificarea constituenților săi.

Ipoteza originii extracelulare – conform căreia polizaharidele capsulare şi cele ale stratului mucos ar fi sintetizate în mediul de cultură sub acțiunea exoenzimelor bacteriene şi s-ar depune apoi pe suprafața celulei. O dovadă în sprijinul acestei ipoteze o constituie faptul că, astfel de substanțe pot fi sintetizate şi în medii fără celule bacteriene (de exemplu, filtratul steril al unei culturi de *Leuconostoc mesenteroides*), unde enzimele care au difuzat în mediu pot cataliza sinteza unor substanțe de tip capsular.

Deşi capacitatea de a elabora capsulă sau strat mucos constituie un caracter ereditar – determinat genetic – pentru anumite specii bacteriene, ea poate să nu se manifeste atunci când condițiile de mediu sunt neadecvate sau poate fi pierdută prin mutație. Celulele bacteriene care nu au această capacitate o pot dobândi prin recombinare genetică, după ce au primit prin transfer determinantul genetic corespunzător, de la o bacterie care formează capsulă sau strat mucos.

Semnificația biologică a capsulei

- Capsula este un produs inert care rezultă din activitatea metabolică a celulei bacteriene şi care poate fi îndepărtat, celula bacteriană păstrându-şi viabilitatea.
- Capsula are un rol ecologic în supraviețuirea bacteriilor în natură. Ea protejează celula bacteriană de efectul nociv al desicației, datorită proprietăților sale higroscopice şi reprezintă un rezervor pentru stocarea substanțelor nutritive sau a celor rezultate din metabolism.
- La bacteriile patogene, capsula are rol protector față de acțiunea fagocitelor. Bacteriile patogene capsulate au o virulență mai mare pentru om şi animale. Astfel, pneumococul capsulat este virulent, în timp ce tulpinile necapsulate sunt nevirulente şi fagocitabile.

3.2.9. Glicocalixul

Glicocalixul este alcătuit dintr-o masă de filamente polizaharidice ataşate de lipopolizaharidele de pe suprafața bacteriilor, formând în

ansamblu o structură ca o pâslă pe suprafața celulei, asigurând fixarea acesteia de alte celule sau suporturi.

Adeseori, diviziunea bacteriilor în interiorul glicocalixului poate produce o microcolonie de celule acoperite de un glicocalix comun.

Glicocalixul este absent în culturile pure de laborator. Se formează numai la celulele aflate în condiții naturale. Această pâslă de filamente polizaharidice reprezintă pentru celulele bacteriene o adevărată suprafață funcțională. În mediile naturale competitive, populate de mai multe tipuri de bacterii, selecția favorizează celulele protejate de glicocalix.

Semnificația biologică a glicocalixului

- Glicocalixul reprezintă un rezervor de hrană pentru bacterii, prin legarea diferiților ioni și molecule care provin din mediul înconjurător sau sunt eliberate prin digestia enzimatică a celulelor moarte.
- Prin glicocalix, bacteriile se leagă de structurile polizaharidice similare de pe suprafața celulelor vegetale. În cazul bacteriilor patogene, această fixare are un grad înalt de specificitate. De exemplu, vibrionul holeric se leagă de "marginea în perie" a celulelor intestinale umane, iar gonococul de celulele uretrale.
- Prezența glicocalixului la bacteriile patogene reprezintă o protecție pentru celulă, asigurând fixarea și menținerea ei în mediile naturale sterile (ex. căile urinare), fără a fi îndepărtată, precum și o rezistență mărită față de bacteriofagi sau protozoare.
- În natură, în apele repezi curgătoare de munte, glicocalixul asigură fixarea bacteriilor pe diferite substraturi inerte (pietre, resturi de lemn etc.) pe care formează depozite vâscoase. În diferite ecosisteme (în special, în sedimentele din lacuri), datorită glicocalixului, bacteriile se pot grupa în asociații de două sau mai multe specii diferite, acționând sinergic în diferite procese fiziologice.

3.2.10. Flagelii

Flagelii sunt apendici filamentoși, dispuși la suprafața bacteriilor, reprezentând organite de locomoție.

Posibilitatea de deplasare se întâlneşte numai la anumite bacterii ca: bacili, vibrioni şi spirili.

Morfologie

Flagelii sunt structuri filamentoase subţiri, flexibile, de formă helicală. Lungimea lor este mult mai mare decât aceea a celulelor care îi poartă. De asemenea, ei sunt mai lungi la celulele bătrâne şi la cele care trăiesc în medii lichide. Forma lor este cilindrică deşi, uneori, apar turtiţi ca o panglică.

Numărul flagelilor pe suprafaţa unei celule variază între 1-100, fiind caracteristic pentru o anumită specie.

În funcţie de dispunerea flagelilor pe suprafaţa celulei bacteriene (Fig. 50) acestea pot fi:

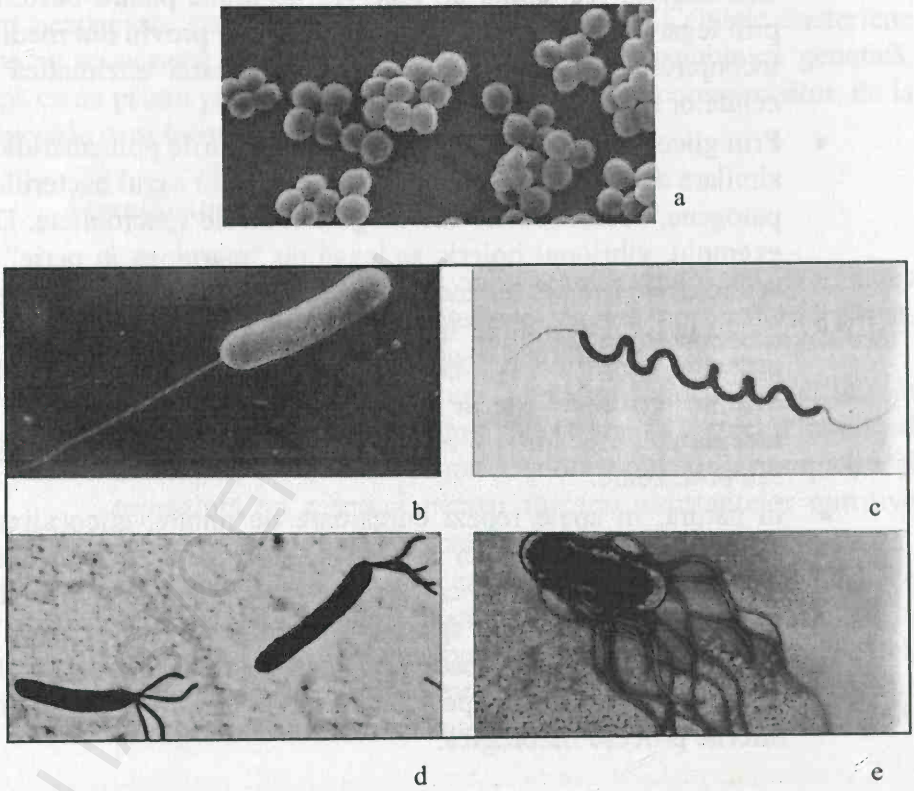


Fig. 50 – Dispoziţia flagelilor pe celula bacteriană: a - bacterie atrichă; b - bacterie monotrichă; c - bacterie amfitrichă; d - bacterie lofotrichă; e - bacterie peritrichă (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

- atriche (bacterii imobile, fără flageli - majoritatea bacteriilor);

- monotriche (cu un singur flagel polar, exemplu *Vibrio cholerae*);
- lofotriche (cu un smoc de flageli situat la un pol al celulei, exemplu *Spirillum marinus*);
- amfitriche (cu câte un flagel la ambii poli ai celulei, exemplu *Bacillus megaterium*);
- peritriche (cu flageli pe toată suprafața celulei, exemplu *Proteus vulgaris*).

Existența flagelilor este controlată genetic și reprezintă un caracter care poate fi pierdut și redobândit prin mutație. Flagelii pot fi observați direct prin microscopie electronică sau prin colorare prin tehnici speciale.

Ultrastructură

Un flagel este alcătuit din trei elemente principale: corpul bazal, cârligul (articulația) și filamentul helical extracelular.

La bacteriile Gram-negative corpul bazal este alcătuit din patru discuri (inele) interconectate și anume (Fig. 51):

- discul "M" – dispus în membrana plasmatică și montat fix pe axul de transmisie, dar care se rotește liber în membrana plasmatică;
- discul "S" – localizat în regiunea supramembranară plasmatică (spațiul periplasmic);
- discul "P" – inclavat în stratul peptidoglicanic;
- discul "L" – legat de membrana externă lipopolizaharidică a peretelui celular.

La bacteriile Gram-pozitive structura corpului bazal este mai simplă, fiind format doar din două discuri: "S" și "M" (Fig. 52).

Din punct de vedere al structurii moleculare flagelii sunt alcătuiți din 11 tipuri de polipeptide. Flagelina reprezintă proteina principală a filamentului. O parte din polipeptide sunt dispuse în structura corpului bazal, iar altele sunt localizate în structura cârligului (croșetului).

Morfogeneza flagelilor începe cu asamblarea discurilor "M" și "S" și continuă cu adăugarea discurilor "P" și "L", a cârligului și a filamentului. Formarea și asamblarea acestor componente este controlată de 30 de gene.

Creșterea flagelului se face la vârf. Flagelina sintetizată în celulă difuzează în canalul central al flagelului și îl străbate până la capătul distal liber unde este depusă simetric, asigurând creșterea flagelului.

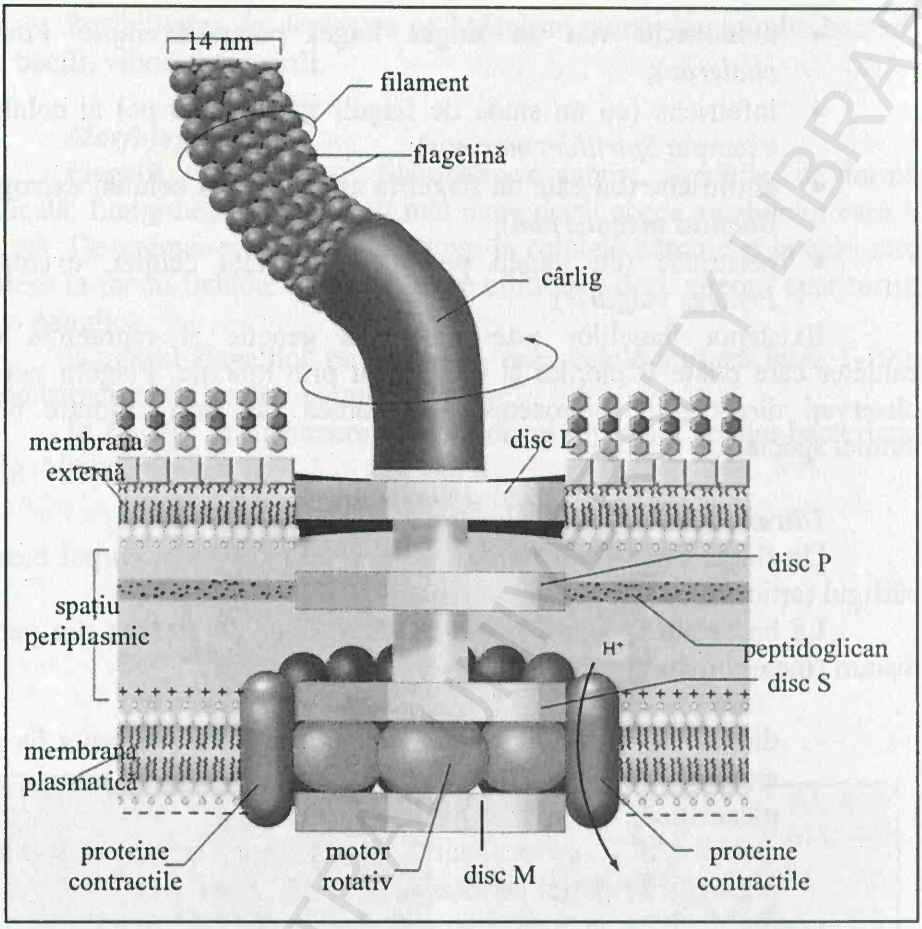


Fig. 51 – Ultrastructura flagelului la bacteriile Gram-negative

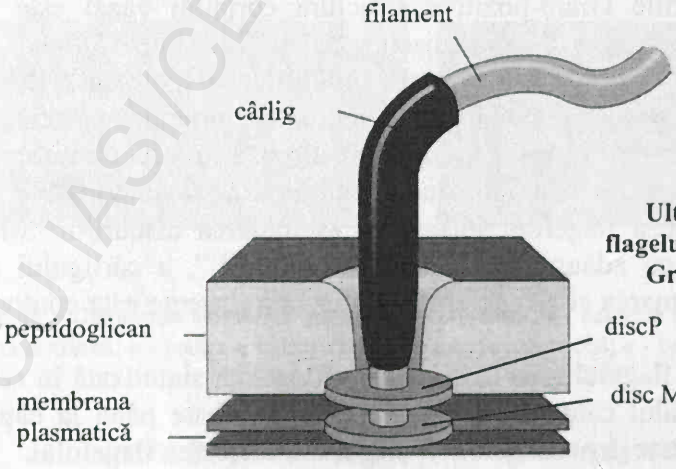


Fig. 52 – Ultrastructura flagelului la bacteriile Gram-pozitive

BCU IASI/CEITM LIBRARY

Modul de deplasare

Filamentul flagelului, pus în mişcare de "motorul rotativ", se învârte în jurul propriului său ax, propulsând astfel celula. Viteza de deplasare este de 20 - 80 μm/s, depăşind de 40 de ori lungimea celulei. Această viteză raportată la lungimea organismului, ar corespunde pentru om la aproximativ 250 km/oră.

Sursa de energie pentru torsiunea "rotorului" este reprezentată de translocaţia ionilor prin discul "M", pentru a interacţiona cu grupările încărcate cu electricitate de sens contrar de pe suprafaţa discului "S". Când flagelii se rotesc în sens opus acelor de ceasornic aceştia formează un fascicul în urma celulei, care este propulsată în linie dreaptă. Când sensul rotirii se schimbă, în sensul acelor de ceasornic, celula se "rostogoleşte" deoarece flagelii se răsfiră, fiecare trăgând celula în altă direcţie. Deci, rotaţia în sens "antiorar" asigură deplasarea celulei în linie dreaptă, iar cea în sens "orar" rostogolirea (Fig. 53).

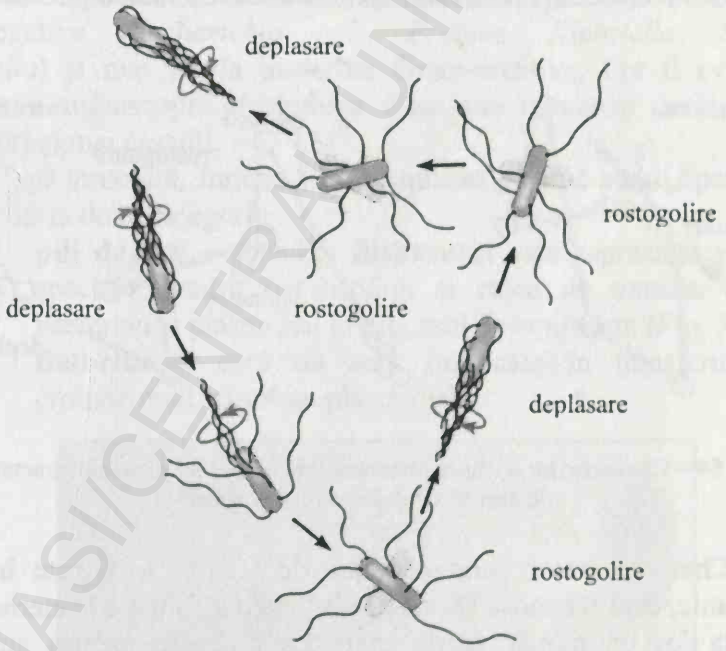


Fig. 53 – Modul de deplasare al celulei bacteriene flagelate

Mişcarea este determinată de reacţia celulei la diferiţi stimuli din mediu. Când celula se deplasează în direcţia stimulului se vorbeşte de un tactism pozitiv, iar când se îndepărtează de stimul de un tactism negativ.

În funcție de natura stimulului deosebim următoarele tipuri de tactisme: chemotactism, fototactism, aerotactism, termotactism etc.

Chemotaxia – este o modalitate de deplasare preferențială a bacteriilor sub efectul unor concentrații inegale de substanțe chimice în mediu. Se manifestă fie prin atragerea, fie prin respingerea bacteriilor din zonele în care concentrația substanței este mai ridicată.

Din punct de vedere al atragerii şi respingerii bacteriilor, există două grupe mari de substanțe chimice:

- substanțe chemotactic pozitive (atractante): zaharuri, aminoacizi, O_2, Ca^{2+};
- substanțe chemotactic negative: acizi graşi, alcooli, H^+, OH^-.

Substanțele atractante determină rotația flagelilor în sens "antiorar" (favorizează deplasarea în linie dreaptă). Astfel, bacteriile se apropie de zona în care substanțele necesare se găsesc în concentrație mare (Fig. 54). Substanțele chemotactic negative determină rotația în sens "orar", mărind frecvența rostogolirilor. Astfel, deplasările în linie dreaptă se scurtează, favorizând îndepărtarea bacteriilor de substanțele nocive.

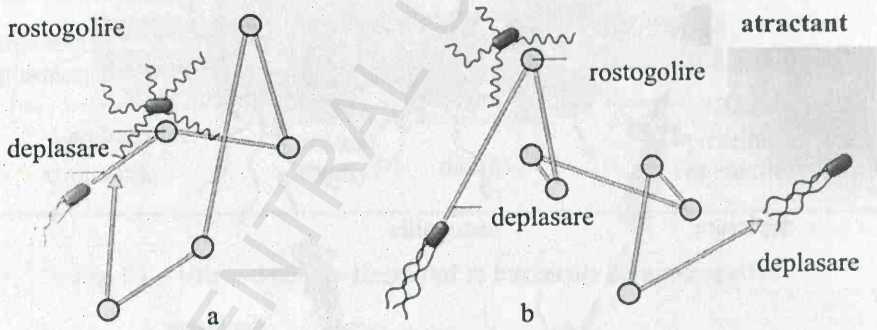


Fig. 54 – Chemotaxia: a - lipsa atractantului chimic; b - prezența atractantului determină deplasarea în linie dreaptă

Chemoreceptorii sunt proteine de legare, localizate în spațiul periplasmic, care recunosc specific substanțele. Celulele bacteriene au pe suprafața lor un număr foarte mare de receptori pentru substanțele atractante şi pentru cele care resping celulele bacteriene. Aceşti receptori transmit informații referitoare la concentrația substanței active din mediu. Tactismul bacteriilor ciliate, în condiții naturale, prezintă importanță ecologică deoarece, datorită lui, bacteriile pot ocoli condițiile nefavorabile de mediu, sau le întâlnesc pe cele favorabile.

Fototaxia – bacteriile purpurii capabile de fotosinteză răspund la stimulii luminoşi, acumulându-se în zonele iluminate; odată ajunse aici nu mai pot părăsi aceste zone deoarece fototaxia este determinată de necesitatea menţinerii vitezei de sinteză a ATP direct proporţională cu intensitatea luminii.

Aerotaxia – reprezintă deplasarea celulelor bacteriene într-un anumit mod, în prezenţa unui gradient de concentraţie a O_2. Prin această mişcare fiecare bacterie caută zona de concentraţie în oxigen adecvată tipului său respirator: aerob, anaerob, microaerofil.

Unele bacterii sunt mobile dar nu prezintă flageli. Acestea se deplasează printr-o mişcare de alunecare (glisare), numai în contact cu o suprafaţă solidă. Mobilitatea prin glisare se întâlneşte la mixobacterii, la unele bacterii filamentoase din genul *Beggiatoa* şi la cianobacterii.

3.2.11. Pilii şi fimbriile

Sunt apendici filamentoşi, pericelulari, prezenţi la bacteriile Gram-negative (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Salmonella*) şi mai rar la bacteriile Gram-pozitive. Pot fi evidenţiaţi numai prin microscopie electronică. Sunt mai numeroşi decât flagelii, mai subţiri şi mai casanţi.

După structură, funcţie şi determinism genetic aceşti apendici au fost grupaţi în două categorii:

- **pili de sex** – apendici filamentoşi care reprezintă receptori specifici pentru bacteriofagi şi calea de transfer a ADN bacterian şi plasmidial în procesul de conjugare (Fig. 55);
- **fimbriile** – care nu sunt implicate în transferul ADN cromozomal, viral sau plasmidial.

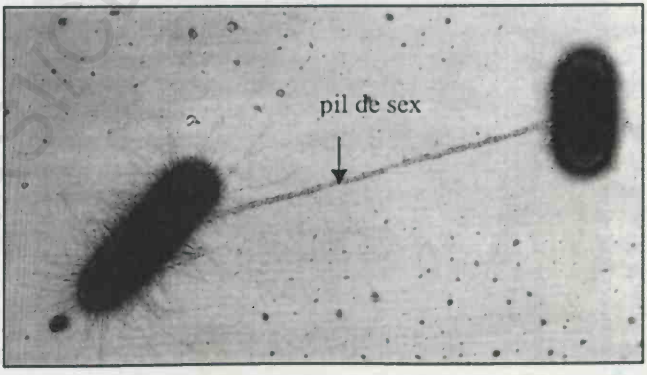


Fig. 55 – *Escherichia coli*: pil de sex, imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Pilii de sex sunt în număr de 1-10/celulă. Sunt codificați de informația genetică extracromozomală (plasmida de sex). Au o lungime de până la 20 μm și un diametru de 6-15 nm. La microscopul electronic apar ca niște structuri tubulare, cu un canal axial delimitat de un perete alcătuit din molecule de pilină (o fosfoglicoproteină), asamblate după o simetrie helicală.

Semnificația biologică a pililor

- Pilii de sex sunt organite esențiale pentru transferul ADN cromozomal sau plasmidial în cursul conjugării celulelor bacteriene mascule și femele.
- Ei poartă receptori pentru fixarea bacteriofagilor de celulele bacteriene și servesc drept conduct prin care se realizează transferul genomului fagic în celula bacteriană. Pierderea pililor prin mutație determină rezistența față de infecția cu bacteriofagi.

Fimbriile sunt apendici filamentoși, rectilinii, dispuși pericelular, polar sau bipolar și a căror sinteză este controlată de gene cromozomale. Numărul lor variază între 1-1000/celulă (Fig. 56). Din punct de vedere morfologic și funcțional au fost descrise 5 tipuri de fimbrii. Sunt structuri tubulare, cu un diametru constant pentru un anumit tip (3-14 nm), în timp ce lungimea lor variază chiar la aceeași celulă între 1-20 μm.

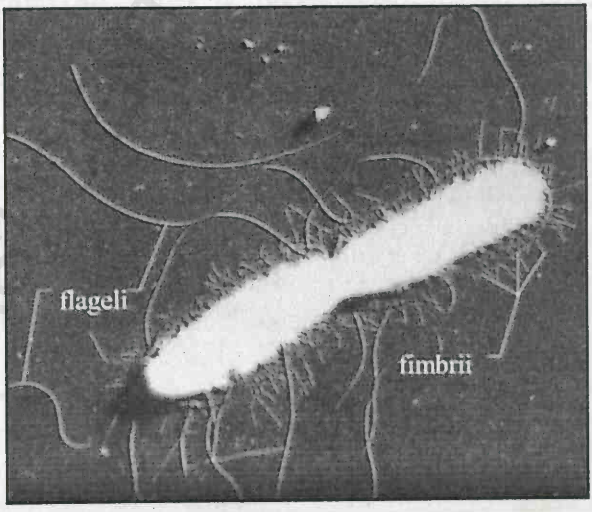


Fig. 56 – *Salmonella typhi*: flageli și fimbrii, imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Fimbriile sunt alcătuite dintr-un număr variabil de molecule de fimbrilină, asamblate după o simetrie helicală. Fimbriile cresc lent şi constant prin sinteza intracelulară a fimbrilinei, care apoi este transportată prin canalul central până la extremitatea lor liberă unde este depusă. Fimbriile rămân legate de protoplaşti şi sferoplaşti, ceea ce arată originea lor intracelulară.

Semnificaţia biologică a fimbriilor

- Creşterea suprafeţei de absorbţie a substanţelor nutritive.
- Creşterea activităţii respiratorii a bacteriilor.
- Facilitarea aderării bacteriilor de diferite substraturi sau alte organisme.
- Formarea unor pelicule de bacterii reunite prin fimbrii la suprafaţa mediilor lichide.
- Servesc ca organite de transport a unor metaboliţi.
- Contribuie la stabilizarea cuplurilor de conjugare.
- Influenţează virulenţa bacteriilor patogene prin: fixarea bacteriilor patogene de celule şi ţesuturi, determinarea unei specificităţi de ţesut; inducerea formării de anticorpi datorită antigenelor din fimbrii; conferirea unei rezistenţe deosebite a bacteriilor la fagocitoză.

3.2.12. Sporul bacterian

La unele bacterii, forma vegetativă se poate transforma într-un spor. Aceste bacterii se numesc sporogene. La bacterii se întâlnesc mai multe tipuri de spori:

1. **Endosporul (sporul propriu-zis)** – este o formaţiune intracelulară, refringentă şi rezistentă la factorii nefavorabili de mediu. Este caracteristic pentru genurile *Clostridium* şi *Bacillus*.
2. **Exosporul** – reprezintă o formaţiune rezistentă, care se întâlneşte la bacteriile metanooxidante şi la unele tulpini de *Rhodomicrobium vannielii*.
3. **Artrosporul** – constituie o formaţiune intracelulară, cu o rezistenţă mai scăzută comparativ cu a endosporului, dar superioară formei vegetative. Se formează prin fragmentarea celulei vegetative. A fost descris la *Bacillus megaterium*.

BCU "ALECU RUSSO" UNIVERSITY LIBRARY

4. **Chlamidosporul** – este întâlnit la mixobacterii şi la *Azotobacter chroococcum*. Rezultă din îngroşarea peretelui celulei vegetative şi acumularea unor substanţe de rezervă. Celulele astfel transformate devin mai rezistente decât celula vegetativă la condiţiile de mediu, fără a avea însă toate particularităţile sporului propriu-zis.
5. **Gonidia** – reprezintă o formaţiune intracelulară, sferică rezultată din condensarea şi fragmentarea conţinutului celular. De regulă apar mai multe gonidii mici în celulă care, după ruperea peretelui celulei în care se formează, se eliberează în mediu. Nu are calităţile specifice sporului adevărat, dar are în schimb rol în înmulţire. A fost descrisă la *Leptothrix ochracea*, *Beggiatoa*, *Crenothrix*.
6. **Sporii de la actinomicete** – sunt rezistenţi la uscăciune dar nu şi la temperatură. Au rol în reproducere. Poartă diferite denumiri în funcţie de reprezentanţii unor familii şi anume: oidiospori, conidiospori, sporangiospori.

Adevăratul spor bacterian sau endosporul este întâlnit la speciile genului *Bacillus* (Fig. 57) şi *Clostridium*. La coci, endosporul este întâlnit numai excepţional la *Sporosarcina ureae*. Datorită calităţilor sale deosebite de rezistenţă, endosporul conservă în stare dormantă, timp îndelungat, toate proprietăţile genotipice ale celulei vegetative din care provine.

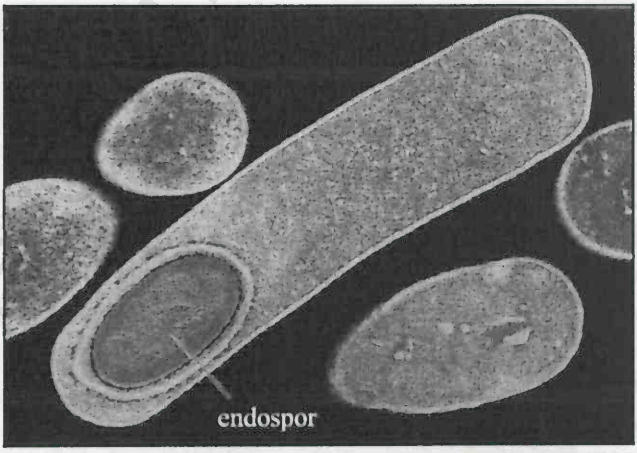


Fig. 57 – Endospor la *Bacillus* sp.: imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

Indiferent de morfologia celulei în care se constituie, forma sporului (endosporului) este rotundă sau ovală, cu diametrul variind între 0,2-2 μm. Poziția sporului în celulă este diferită și reprezintă un criteriu taxonomic. Astfel, sporul ocupă o poziție centrală la *Bacillus anthracis*, subterminală la *Bacillus cereus* sau o poziție terminală la *Clostridium tetani*.

La unele specii, diametrul sporului este mai mare decât cel al celulei în care se formează, din care cauză deformează celula. Sporii deformanți îi întâlnim la bacilii telurici, anaerobi, aparținând genului *Clostridium* și pot avea poziție centrală, dându-le acestora aspect de fus (*Clostridium pasteurianum*), poziție subterminală – aspect de rachetă de tenis (*Clostridium sporogenes*) sau băț de tobă, dacă sporul este terminal (*Clostridium tetani*) – Fig. 58.

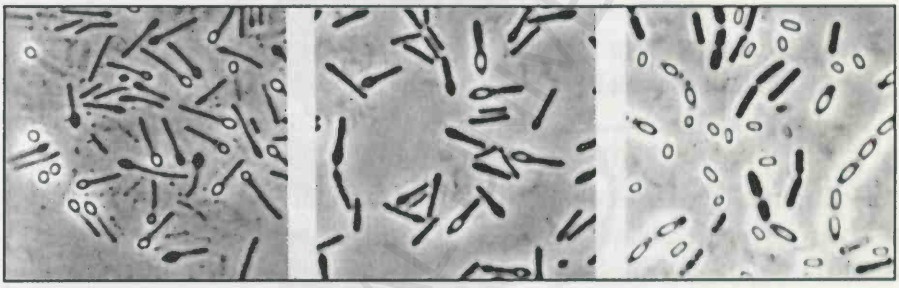


Fig. 58 – Spori deformanți la *Clostridium* sp.: a - spori centrali; b - spori subterminali; c - spori terminali (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Sporul este unic și numai excepțional s-au descris mai mulți spori în aceeași celulă. Această situație se datorește unei nesincronizări între procesul de diviziune celulară și cel de sporogeneză.

La microscopul fotonic sporii apar ca formațiuni refringente distincte, incolore, deoarece nu sunt permeabili la coloranți. Pot fi însă colorați prin metode speciale (ex. cu verde malachit).

Ultrastructura.

În general, ultrastructura sporului este, cu mici variații, aceeași la toate bacteriile. Microscopia electronică a pus în evidență următoarele elemente structurale (Fig. 59):

- **tunicile (învelișurile sporale)** – reprezintă trei straturi suprapuse: unul extern (*exina*), unul intern (*intina*), între care

se găseşte *stratul mijlociu*; toate sunt electronoopace şi reprezintă 20-30 % din greutatea sporului, conţinând 80% din proteinele sporale;

- **cortexul** – este o zonă electronotransparentă, situată sub tunica internă, format dintr-un peptidoglican (altul decât mureina) şi acid dipicolinic;
- **membrana sporoplasmei** – este identică cu membrana citoplasmatică a celulei vegetative;
- **sporoplasma** (*inima sporului*) – reprezintă 60-70% din greutatea sporului şi conţine elementele biologic active (ADN, ARN, mai puţin ARN mesager, ribozomi).

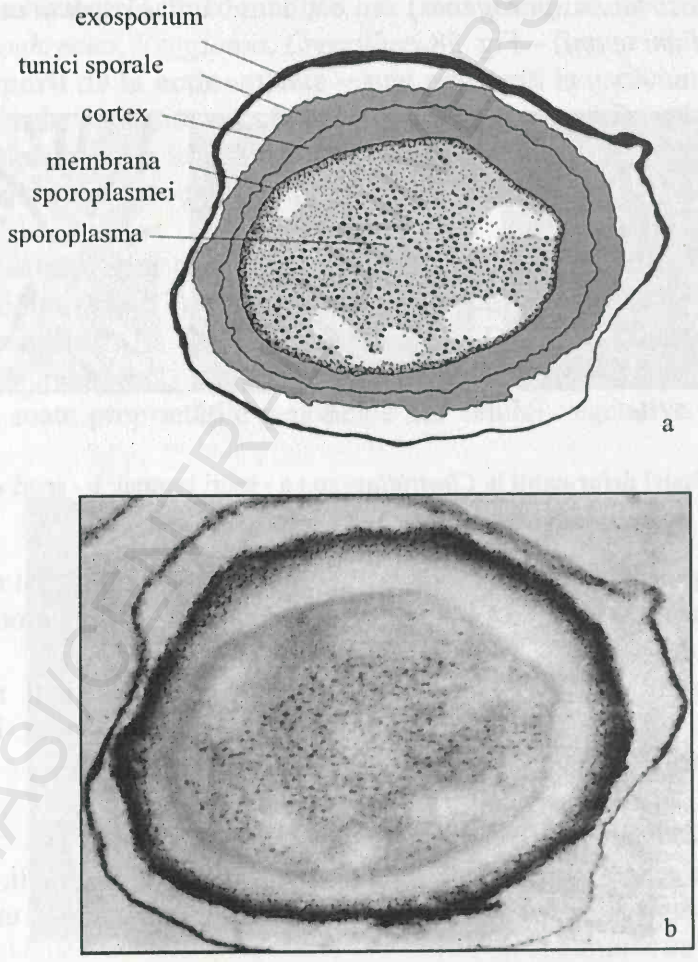


Fig. 59 – Ultrastructura sporului: a - schemă; b - imagine electronomicroscopică (după Lim, 1998)

BCU IASI CENTRU UNIVERSITAR LIBRARY

La unele specii (*Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*), la suprafața tunicilor sporale, se află un strat mucos, de formă neregulată numit **exosporium**. La altele (*Bacillus circulans*) sporul prezintă niște apendici tubulari sau de forma unor pene de pasăre, izolați sau grupați la unul sau la ambii poli.

Sporul conține, în general, aceeași componenți ca celula vegetativă dar în raporturi diferite. Astfel, comparativ cu celula vegetativă, sporul are un conținut scăzut în apă, mai ales în apă liberă; este mai bogat în Ca^{2+} și Mg^{2+} dar mai sărac în K^{+}. Caracteristic sporului este prezența acidului dipicolinic, care sub forma dipicolinatului de calciu conferă sporului termorezistență. Sporul este mai sărac în enzime decât celula vegetativă, iar enzimele existente sunt inactive, motiv pentru care sporul este metabolic inactiv.

Sporogeneza

Reprezintă un proces de morfogeneză în urma căruia în interiorul unei celule bacteriene se diferențiază o altă celulă diferită din punct de vedere chimic, enzimatic și fiziologic.

Sporogeneza comportă șase stadii (Fig. 60):

- **Stadiul 1** – începe în urma unei diviziuni nucleare, fără a fi urmată de diviziunea celulei. Elementele nucleare rezultate din diviziune se contopesc, formând un singur filament cromatic axial.
- **Stadiul 2** – membrana citoplasmatică se invaginează inelar, închizându-se ca o diafragmă și formează septul sporal la unul din polii celulei.
- **Stadiul 3 (de prespor)** – septul sporal se alungește, circumscriind o zonă din citoplasmă pe care o închide complet. Presporul este delimitat de o membrană dublă dar rămâne inclus în citoplasma celulei mamă (sporange).
- **Stadiul 4** – între cele două foițe ale membranei presporului se depune un peptidoglican, altul decât mureina, formând o zonă clară, cu structură lamelară, numită cortex. La sfârșitul acestui stadiu, pe partea internă a cortexului, se diferențiază un perete celular primordial care va fi viitorul perete al celulei ce va rezulta din germinarea sporului.
- **Stadiul 5** – apar tunicile sporale (intina și exina), formate din proteine bogate în glicină, tirozină și cistină.

BCU "LUCIAN BLAGA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

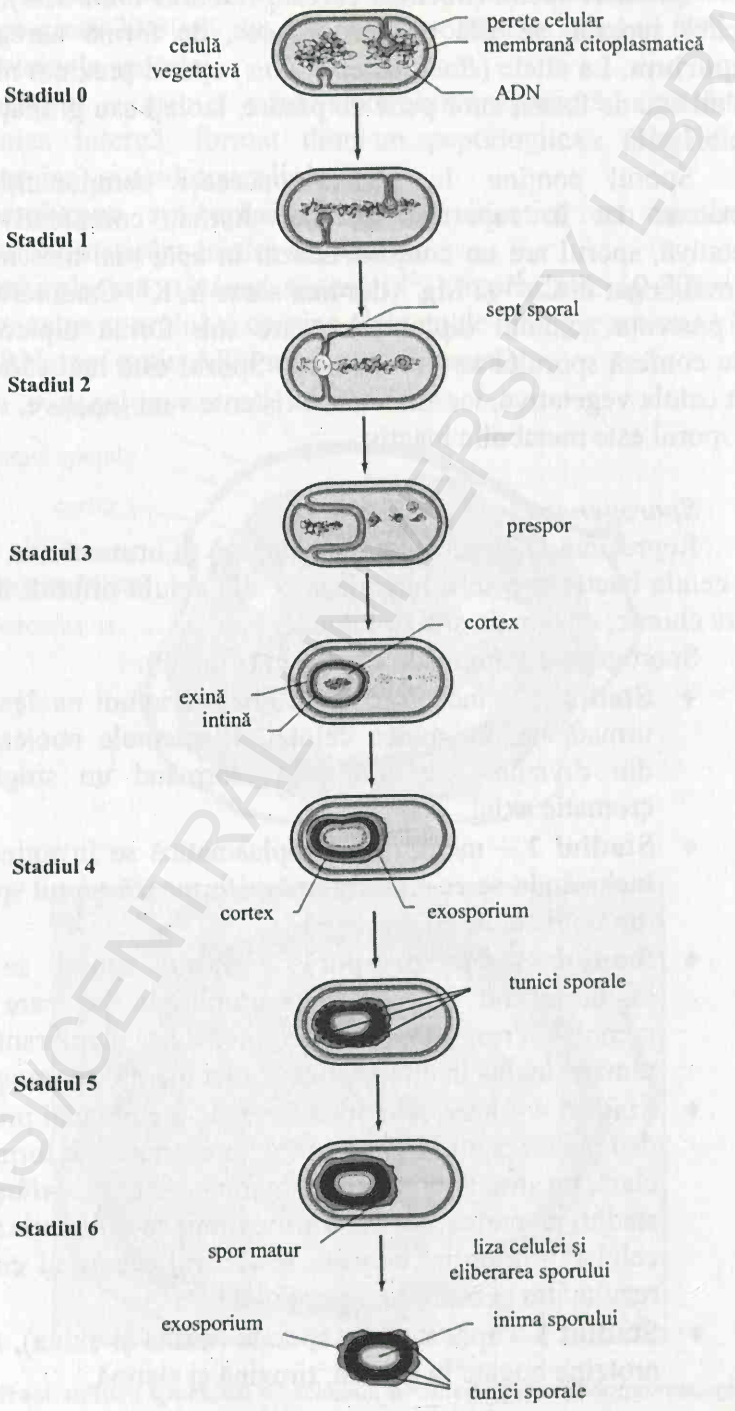


Fig. 60 – Stadiile sporogenezei

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- **Stadiul 6** – se sintetizează acidul dipicolinic şi se acumulează cantităţi mari de Ca^{2+}, apare refringenţa şi rezistenţa sporului la agenţii chimici. Sporul devine matur şi ulterior va fi pus în libertate prin liza celulei, produsă de enzime ce se sintetizează în cursul sporogenezei.

Durata sporogenezei variază foarte mult în funcţie de specie şi factorii de mediu. La *Bacillus subtilis*, la 37^0 C, în medii aerate, sporogeneza durează 6 ore. În aceleaşi condiţii, la *Bacillus cereus*, durata sporogenezei este de 6,5-8 ore.

Sporogeneza este un fenomen determinat genetic. Genele respective, în număr de câteva zeci, sunt repartizate la întâmplare pe cromozomul bacterian şi sunt inactive în celula vegetativă, datorită unor represori. Cercetările efectuate la *Bacillus subtilis*, tulpina *Marburg*, au arătat că la sfârşitul fazei de multiplicare logaritmică şi a epuizării mediului în anumite substanţe nutritive, moment notat arbitrar t_0, majoritatea celulelor încep să formeze spori. Sporul va fi complet format după 6,5 ore, respectiv la timpul $t_{6,5}$, când 60 % dintre celule sunt sporulate. Dacă la timpul t_0 se adaugă mediului glucoză, multiplicarea continuă, iar la timpul $t_{6,5}$ numai 1% din celule sunt sporulate. Aceasta înseamnă că glucoza adăugată mediului represează genele de sporogeneză şi în consecinţă sporul nu se mai formează, faza logaritmică de multiplicare continuându-se. Dacă glucoza este adăugată mediului nu la timpul t_0 ci cu 0,5 ore mai târziu, adică la $t_{0,5}$, efectul ei represor nu se mai produce. În aceste 30 de minute în celulele apte de sporulare s-au produs modificări irevesibile şi fenomenul de sporulare nu mai poate fi oprit. La alte specii, glucoza îşi exercită efectul represor numai în asociere cu o sursă de azot uşor metabolizabilă.

Sporogeneza este însoţită şi de unele modificări biochimice. Astfel, unele substanţe care se sintetizau în celula vegetativă nu se mai sintetizează în celula pe cale de sporulare, în schimb în aceasta din urmă apar substanţe noi (acidul dipicolinic). Celulele intrate în sporogeneză pot continua formarea sporului chiar dacă sunt separate de mediu şi introduse în apă distilată. Aceasta dovedeşte că sursele de energie şi de substanţe plastice necesare constituirii structurilor sporale sunt asigurate de celulă, pe seama substanţelor de rezervă acumulate în etapa premergătoare. Energia necesară sporogenezei poate fi asigurată de oxidarea polizaharidelor sau lipidelor de rezervă, de oxidarea acizilor cu C_2 şi C_3 acumulaţi în mediu în timpul creşterii şi de oxidarea unor acizi aminici eliberaţi din metabolismul proteic.

În cursul sporogenezei la unele bacterii aerobe sau anaerobe se eliberează în mediu substanţe biologic active: enzime, antibiotice, toxine.

Fenomenul este deosebit de important pentru industria microbiologică, bacteriile respective fiind utilizate în producerea industrială a enzimelor (*Bacillus subtilis*), antibioticelor (specii de *Bacillus* şi *Streptomyces*), toxine (specii de *Clostridium*) etc.

Germinarea sporului

Reprezintă fenomenul de transformare a sporului în celula vegetativă, respectiv trecerea sporului din stare dormantă, metabolic inactivă, la starea metabolic activă. Se realizează în trei faze succesive: activarea, iniţierea germinării şi creşterea postgerminală.

- **Activarea germinării** – este produsă în condiţii favorabile de umiditate, temperatură, pH şi de unele substanţe chimice.
- **Iniţierea germinării** – este marcată de creşterea sporului în volum, ca urmare a absorbţiei de apă, de pierderea refringenţei, tumefierea cortexului, a tunicilor sporale şi pierderea termorezistenţei.
- **Creşterea postgerminală** – dezintegrarea structurilor sporale începută în faza de iniţiere se desăvârşeşte în faza de creştere postgerminală paralel cu dobândirea activităţii respiratorii şi a altor activităţi metabolice. Cortexul şi tunicile sporale dispar, iar noua celulă vegetativă ce se constituie în centrul sporului creşte, se alungeşte şi herniază din spor. Uneori celula vegetativă poartă ataşate la unul sau la ambii poli resturi din învelişurile sporale. Creşterea postgerminală însoţită şi de unele modificări de ordin molecular (apariţia ARN mesager, a enzimelor şi iniţierea sintezei acizilor teichoici) se sfârşeşte în momentul în care celula vegetativă intră în prima diviziune.

Semnificaţia biologică a sporului

- Sporul reprezintă o etapă normală a ciclului de dezvoltare a bacteriilor sporogene, deoarece sporogeneza necesită condiţii de mediu similare celor reclamate de celula vegetativă, uneori cu limite de variaţie mult mai mici. El se deosebeşte de celula vegetativă prin mai multe caractere şi se comportă ca o formă de rezistenţă ce păstrează intacte toate caracterele genotipice şi fenotipice ale speciei.
- Sporul bacterian nu reprezintă o formă de multiplicare ca la fungi.

BCU IAŞI CENTRALA UNIVERSITARĂ LIBRARY

- Rezistența sporului bacterian la factorii nefavorabili de mediu este deosebit de mare; pot rezista câteva ore la 120^0 C căldură umedă sau 200^0 C căldură uscată. S-au evidențiat spori viabili și după mai bine de 100 ani (*Bacillus anthracis*). Există date în literatură care arată viabilitatea sporilor după câteva sute de ani sau chiar din epoca cuaternară.

3.2.13. Cromatoforii

Cromatoforii sau **aparatul fotosintetic** reprezintă un complex de structuri membranoase implicate în procesul de conversie a energiei luminoase în energie chimică. La celulele procariote aparatul fotosintetic este localizat în regiunea membranei plasmatice, care prezintă invaginări sub formă de vezicule și sisteme lamelare (Fig. 61).

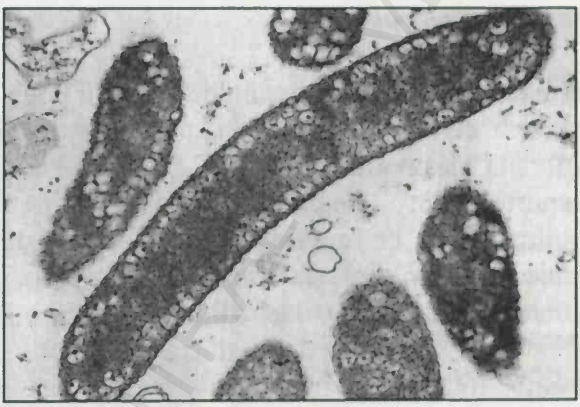


Fig. 61 – Cromatofori la *Rhodospirillum rubrum*: imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

La **bacteriile sulfuroase purpurii** (*Thiorhodaceae*) aparatul fotosintetic este reprezentat de trei tipuri de structuri derivate din membrana plasmatică:

- vezicule membranoase simple;
- membrane tubulare dispuse paralel sau formând o rețea de tuburi ramificate neregulat;
- pachete de 8-12 perechi de lamele legate de membrana plasmatică, formând **o unitate integrală**. Mărimea și numărul lamelelor sunt proporționale cu intensitatea luminii.

Reprezentanți: *Cromatium* sp., *Thiococcus* sp..

BCU MICROBIOLOGY LIBRARY

La **bacteriile nesulfuroase purpurii** (*Athiorhodaceae*) aparatul fotosintetic se prezintă astfel:

- vezicule membranoase dispuse în toată citoplasma, dar unele dintre ele rămase în continuitate cu membrana plasmatică;
- sisteme lamelare dispuse în pachete la periferia celulei;
- sisteme lamelare complexe dispuse în inele concentrice la periferia celulei.

Reprezentanți: *Rhodospirillum* sp., *Rhodopseudomonas* sp.

La **bacteriile verzi** aparatul fotosintetic este reprezentat de un sistem de vezicule mari, ovalare, fără legături evidente cu membrana plasmatică. Ele formează sub membrana plasmatică un strat cortical de vezicule, delimitat de o membrană unistratificată. Veziculele sunt umplute cu fibrile fine aşezate paralel cu axul lor lung, sau cu particule sferice goale în interior.

Reprezentanți: *Chlorobium* sp.

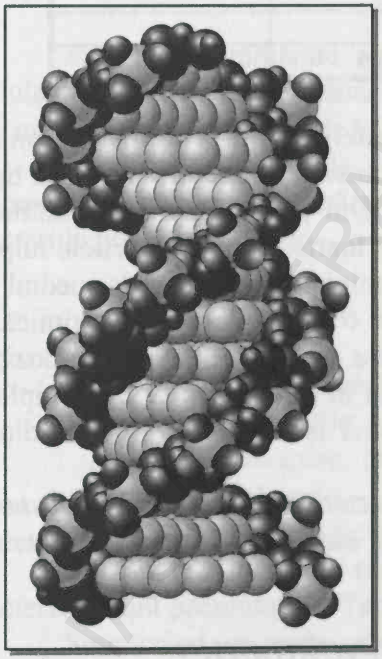
La **cianobacterii** aparatul fotosintetic apare în două configurații:

- un sistem de saci membranoşi, turtiți (tilacoizi), separați de membrana plasmatică, ce conțin centri de reacție şi sistemul transportor de electroni. Ficobilizomii care conțin ficobiliproteine ce captează lumina sunt de forma unor granule dispuse în şir regulat şi ataşați de suprafața membranei externe a tilacoizilor. Membrana plasmatică nu conține nici un component al aparatului fotosintetic. Deci, aparatul fotosintetic este internalizat, situație similară cloroplastului de la eucariote;
- sediul aparatului fotosintetic este reprezentat de o membrană celulară, iar ficobiliproteinele sunt localizate într-un strat continuu, subcortical. Este o structură analoagă celei descrise la bacteriile verzi.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

4

COMPOZIȚIA CHIMICĂ A CELULEI BACTERIENE



Modelul spațial al moleculei de ADN

4.1. Substanțele anorganice
4.2. Substanțele organice

BCU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Celula bacteriană are, în general, o compoziție chimică asemănătoare cu cea a celorlalte organisme (Tabel III), dar aceasta variază în funcție de compoziția mediului și vârsta celulelor.

Tabel III – Compoziția chimică a celulei procariote (după Neidhardt, 1996)

Molecule	% din greutatea uscată a celulei	Molecule/celulă
Proteine	55	2.350.000
Polizaharide	5	4.300
Lipide	9	22.000.000
Lipopolizaharide	3,4	1.430.000
ADN	3,1	1
ARN	20,5	255.500
Total macromolecule	**96**	**26.039.801**
Aminoacizi și precursori	0,5	
Glucide și precursori	2	
Nucleotide și precursori	0,5	
Total monomeri	**3**	
Ioni anorganici	1	
Total	**100**	

Compoziția chimică a celulei bacteriene este controlată genetic, dar acest caracter este doar calitativ, în sensul că se referă numai la tipul de substanțe, nu și la concentrația lor. Din punct de vedere cantitativ diferitele substanțe celulare pot să difere foarte mult, la diferitele tulpini ale aceleași specii sau chiar la aceeași tulpină, în funcție de mediul de cultură. Rezultă că celula bacteriană are o mare plasticitate chimică, o pronunțată capacitate de adaptare la mediu, prin modificarea compoziției chimice în raport cu compoziția mediului în care crește și se multiplică. În cursul acestui proces, celula bacteriană își modifică raportul dintre substanțe dar nu și substanțele însăși.

Substanțele chimice din celula bacteriană se împart în ***substanțe anorganice*** (apa și sărurile minerale) și ***substanțe organice*** (proteine, glucide, lipide, acizi nucleici etc.).

4.1. SUBSTANȚELE ANORGANICE

4.1.1. Apa

Apa este cel mai important constituent al celulei bacteriene. Cantitativ, ea reprezintă 65-75 % din greutatea celulei vegetative.

În celula bacteriană apa se găseşte sub două forme: apă liberă şi apă legată de diferitele componente celulare (coloizi).

Importanța pe care o prezintă apa pentru celula vie se datoreşte unor proprietăți fizico-chimice particulare, care decurg din structura spațială a moleculei şi anume: este un solvent polar, caracterizat prin forțe de atracție intermoleculare foarte puternice; formează cu uşurință legături de hidrogen; este un excelent solvent de compuşi chimici, începând cu molecule organice şi sfârşind cu sărurile minerale care disociază complet în ioni; disociază uşor în ioni H_3O^+ şi OH^-, ceea ce influențează reacțiile din celule; favorizează disocierea altor substanțe.

Rolul fiziologic pe care-l deține apa este esențial, deoarece ea constituie mediul în care se dizolvă majoritatea componentelor celulare şi în care au loc toate reacțiile metabolismului intermediar. Metabolismul normal şi activitatea tuturor sistemelor enzimatice care îl catalizează, creşterea şi multiplicarea bacteriilor sunt posibile numai în prezența apei.

4.1.2. Substanțele minerale

Substanțele minerale reprezintă 2-20% din greutatea uscată a celulelor. În celulele tinere concentrația elementelor minerale este de 6-7 ori mai mare decât în celulele bătrâne.

Compoziția minerală a celulelor bacteriene determină şi comportamentul lor față de sărurile din mediu. Din acest punct de vedere, bacteriile pot fi grupate în:

- nehalofile – bacterii care necesită pentru dezvoltarea lor mai puțin de 1 % NaCl;
- halofile – cu necesități în NaCl mai mari de 1 %. Dintre bacteriile halofile fac parte specii din familia *Pseudomonadaceae*, bacteriile sulfatoreducătoare etc. Toate se caracterizează prin dimensiuni mici şi prin sinteza unor pigmenți carotenoidici de culoare galbenă sau roşie.

Principalele substanțe minerale care intră în compoziția celulelor bacteriene sunt prezentate în Tabelul IV.

Sintetizând, se poate conchide că, prezența substanțelor minerale sub formă de săruri este necesară în celulă pentru:

- menținerea echilibrului acido-bazic şi a potențialului oxido-reducător;
- reglarea presiunii osmotice şi menținerea echilibrului de membrană;
- sinteza unor constituenți celulari (rol plastic);

- activarea unor sisteme enzimatice.

Tabel IV – Principalele elemente minerale din celula bacteriană şi rolul lor fiziologic

Elementul	% din greutatea uscată a celulei	Rolul fiziologic
Carbon	50	- constituent al substanțelor organice celulare
Oxigen	20	- constituent al apei şi al substanțelor organice din celulă - ca O_2, acceptor de electroni în respirația aerobă
Azot	14	- constituent al proteinelor, acizilor nucleici şi coenzimelor
Hidrogen	8	- constituent al apei şi al substanțelor organice din celulă
Fosfor	3	- constituent al acizilor nucleici, fosfolipidelor şi al unor coenzime
Sulf	1	- constituent al proteinelor (al acizilor aminici cu sulf) şi al unor coenzime (CoA)
Potasiu	1	- principalul cation mineral în celulă - cofactor pentru unele enzime
Sodiu	1	- cation major extracelular
Calciu	0,5	- cation celular important - cofactor pentru unele enzime (proteaze)
Magneziu	0,5	- cation celular important - cofactor pentru foarte multe reacții enzimatice - constituent al bacterioclorofilei
Mangan	0,5	- cofactor mineral pentru unele enzime, uneori înlocuind magneziul
Clor	0,5	- anion major celular
Fier	0,2	- constituent al citocromilor şi al altor proteine heminice sau neheminice - cofactor pentru unele enzime
Cobalt	0,2	- constituent al vitaminei B_{12}
Alte elemente (Cupru, Zinc, Molibden)	0,3	- constituenți minerali ai unor enzime speciale

4.2. SUBSTANȚELE ORGANICE

Constituenții principali şi caracteristici ai tuturor microorganismelor sunt compuşii organici ai carbonului, înzestrați cu

structură şi funcționalitate specifică, ceea ce justifică şi denumirea lor de ***biomolecule***.

Într-o celulă, indiferent de specia de la care provin, biomoleculele sunt foarte diferite ca entități chimice, în număr mare, iar unele au masă moleculară mare, fiind cunoscute sub denumirea de ***macromolecule celulare***. Se apreciază că într-o celulă de *Escherichia coli* există cel puțin 5000 de tipuri de biomolecule, din care 3000 sunt proteine diferite, iar 1000 acizi nucleici diverşi.

Cu tot caracterul lor macromolecular, aceşti constituenți chimici celulari au ca precursori molecule simple, cu masă moleculară mică, ce sunt convertite în macromolecule în cursul metabolismului. Aceşti precursori au fost denumiți de specialişti ***biomolecule primordiale***.

Aparținând la clase diferite, macromoleculele sunt înzestrate cu proprietatea de a se combina între ele, formând sisteme supramoleculare, iar acestea la rândul lor, se unesc, dând naştere la organitele celulare. Dintre sistemele supramoleculare, un rol important îl au lipopoliproteinele, combinații între proteine şi lipide şi ribozomii, infrastructuri celulare alcătuite din acizi ribonucleici şi proteine etc.

Studiile remarcabile din ultimii ani au arătat că în acizii nucleici şi în proteine, precursorii lor, respectiv nucleotidele şi acizii aminici, sunt dispuşi în secvențe specifice, datorită informației genetice existente în fiecare celulă. Aceste biomolecule mai sunt denumite şi ***macromolecule informaționale***. În schimb, în macromoleculele de lipide şi de glucide precursorii lor sunt dispuşi sub forma unei alternanțe regulate, care nu mai este dependentă de informația genetică, motiv pentru care aceste biomolecule mai sunt denumite şi ***macromolecule neinformaționale***.

Principalele categorii de constituenți organici celulari macromoleculari care îndeplinesc roluri fundamentale în structura şi funcțiile celulei microorganismelor sunt ***glucidele***, ***lipidele***, ***proteinele*** şi ***acizii nucleici*** (Fig. 62).

4.2.1. Glucidele

Glucidele reprezintă 4-25 % din greutatea uscată a bacteriilor. Ele pot fi clasificate în 3 grupe majore: ***monozaharide***, ***dizaharide*** şi ***polizaharide***.

Dintre monozaharide, glucoza îndeplineşte un rol important în celulele microorganismelor, fiind folosită drept „combustibil" pentru obținerea energiei. Există câteva particularități ale moleculei de glucoză care fac avantajoasă utilizarea ei ca o substanță cheie în metabolismul celular: conține în legăturile sale chimice o cantitate substanțială de

energie, este ușor susceptibilă degradării pe cale oxidativă pentru eliberarea energiei și este solubilă în apă. Unii derivați ai glucozei (N-acetilglucozamina și acidul N-acetilmuramic) formează peptidoglicanul - polimer al peretelui celular.

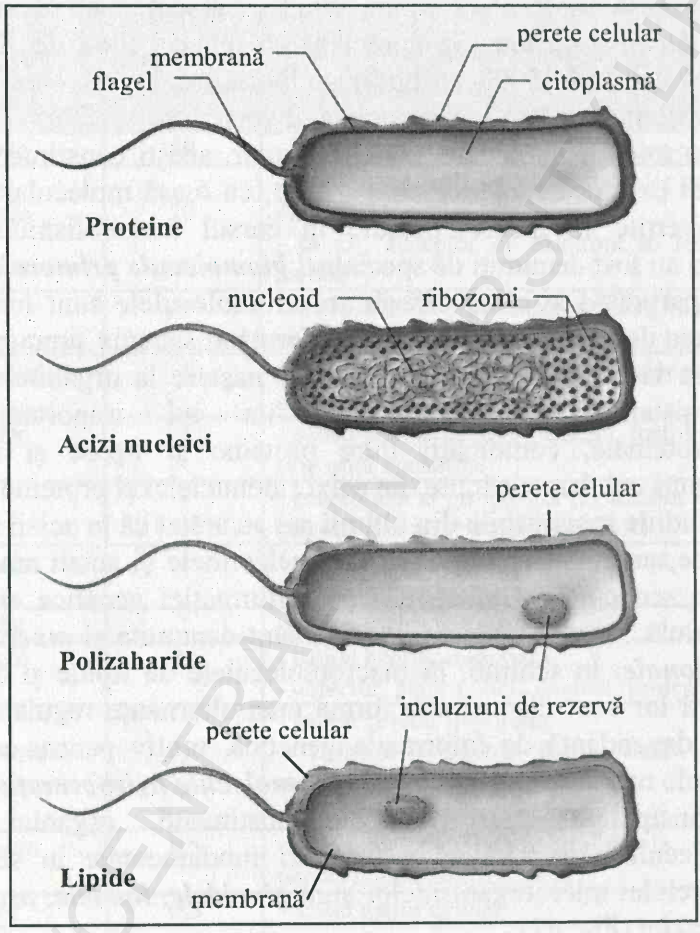


Fig. 62 – Localizarea substanțelor organice în celula procariotă

Pentozele (riboza și dezoxiriboza) sunt constituenți importanți ai celulelor bacteriene, deoarece intră în structura acizilor nucleici.

Polizaharidele pot fi endocelulare, constituind substanțe de rezervă (incluziunile de glicogen și amidon) și exocelulare, cum sunt dextranii sau glucozanii excretați de *Leuconostoc mesenteroides* sau fructozanii de la *Bacillus subtilis, Streptococcus salivarius* etc.

Acumularea polizaharidelor în jurul celulei bacteriene are loc atunci când în mediul de cultură sursa de azot s-a epuizat, dar mai există cantități suficiente din sursa de carbon. Bacteriile nu conțin celuloză. În

mod excepțional, la *Gluconacetobacter xylinus*, în prezența zaharozei și glicerolului, se formează, la suprafața peretelui celular, fibre de celuloză care dau coloniilor aspect pâslos.

Unele polizaharide heterogene (polimeri micști), în special mucopolizaharidele, au un rol important în determinarea specificității antigenice și ca factori de virulență. Așa sunt heteropolizaharidele capsulare la pneumococ.

4.2.2. Lipidele

Conținutul celulelor bacteriene în lipide este foarte variabil, funcție de specie, vârsta celulei și mediile de cultură. Ele reprezintă 1-20 % din greutatea uscată a bacteriilor dar, la *Mycobacterium* sp. pot ajunge până la 40 %. Lipidele pot fi întâlnite sub două forme: simple și complexe. Natura constituenților lipidici extrași din bacterii este foarte diferită: gliceride, fosfatide, ceruri. Cu excepția micoplasmelor, la bacterii nu întâlnim glicerol.

Lipidele sunt localizate în membrana citoplasmatică și au un rol esențial în structura și funcționarea celulelor. Sunt prezente sub formă de picături intracitoplasmatice, reprezentând substanțe de rezervă cu nivel energetic ridicat. Totuși, acumularea lor în celulă pare să fie dovada degenerescenței. Incluziunile lipidice intracitoplasmatice sunt reprezentate de poli-β-hidroxibutirat, care poate fi folosit ca sursă de energie și carbon, prin descompunerea anaerobă în β-hidroxibutirat și acetoacetat, metaboliți ce pot fi apoi oxidați în CO_2 și H_2O.

La *Mycobacterium tuberculosis,* bacterie ce produce tuberculoza, peretele celular poate fi diferențiat prin conținutul sau bogat în lipide complexe ca ceruri (mycol) și glicolipide, conferindu-i bacteriei caracteristici de colorare distinctive. Pereții celulari bogați în asemenea lipide sunt caracteristici la toți reprezentanții genului *Mycobacterium.*

Fosfolipidele reprezintă o clasă importantă de lipide complexe, datorită rolului major structural în membrana citoplasmatică. Sinteza bacteriană a fosfolipidelor poate fi importantă pentru supraviețuirea bacteriilor, de exemplu, *Legionella pneumophila* care se dezvoltă în interiorul celulei gazdă.

4.2.3. Proteinele

Proteinele bacteriene, holoproteine și heteroproteine, reprezintă, în medie, 60 % (12-85 %) din greutatea uscată a celulelor. Ele constituie circa un milion de molecule de diferite tipuri (2000-3000).

BCU MEDICINA UNIVERSITY LIBRARY

Proteinele sunt componente esențiale, cu rol important în structura și funcționarea celulei. Catalizatorii biologici sau enzimele, care determină și reglează toate reacțiile chimice necesare vieții și multiplicării celulare, sunt tot proteine, considerate ca instrumentul principal în exprimarea informației genetice conținută în ADN. Tot proteinele sunt implicate în transportul substanțelor chimice în interiorul sau în exteriorul celulelor; protecția imună (anticorpi contra bacteriilor, virusurilor, celulelor străine); controlul creșterii și diviziunii celulare; menținerea constantă a presiunii osmotice și a pH-ului. Bacteriocinele – proteine produse de numeroase bacterii - au efect bactericid asupra altor bacterii; unele toxine, numite exotoxine, produse în unele boli cauzate de microorganisme sunt de asemenea proteine; unele proteine joacă un rol important în deplasarea celulelor bacteriene. De asemenea, proteinele au rol plastic, fiind componente de bază ale tuturor structurilor celulare și îndeplinesc funcții de susținere.

De remarcat este faptul că proteinele pot îndeplini funcții atât de variate datorită specificității lor respectiv, capacității de a distinge între diferitele tipuri de molecule cu care vin în contact pe acelea cu care se pot combina sau asocia specific: enzimele cu substratele, transportorii cu substanțele transportate, anticorpii cu antigenele. Specificitatea proteinelor se datorește structurii lor moleculare spațiale.

Conținutul proteic total al bacteriilor nu variază în funcție de starea fiziologică a celulei deoarece el este menținut constant datorită, pe de o parte, mecanismelor de reglare metabolică, iar pe de altă parte stabilității lor. Natura proteinelor bacteriene este foarte diferită. Circa 50 % din proteine au un rol plastic-structural, iar cealaltă jumătate îndeplinesc funcții enzimatice.

Enzimele bacteriene

Bacteriile posedă un echipament enzimatic foarte complex și activ, datorită căruia ele desfășoară în natură o activitate importantă, fiind implicate în realizarea circuitului substanțelor. Elementele chimice biogene ca azot, carbon, fosfor, sulf și altele parcurg la suprafața planetei circuite caracteristice, care nu s-ar putea realiza sau nu ar fi complete, dacă nu ar interveni activitatea enzimatică a microorganismelor, a bacteriilor în primul rând. Enzimele bacteriene prezintă caracterele generale ale tuturor enzimelor: sunt eficiente în cantități extrem de mici, se regăsesc neschimbate la sfârșitul reacției, nu afectează echilibrul reacției chimice, au o mare specificitate de reacție.

În funcție de raportul lor cu celula bacteriană care le produce, enzimele pot fi:

- **exoenzime** sau enzime elaborate de celula bacteriană dar eliminate în afara acesteia, unde acționează, transformând diferite substrate în molecule mici care pot traversa barierele celulei; acestea sunt hidrolaze ca proteaze, amilaze, celulaze;
- **endoenzime** sau enzime intracelulare; acestea pot fi:

- enzime solubile, localizate la suprafața structurilor superficiale, de unde pot fi ușor eliberate prin intervenția unor factori mecanici sau fizici (sfărâmare, ultrasunete);
- enzime „particulate" (legate de structuri celulare ca: membrana celulară, mezozomii, cromatoforii); aceste enzime realizează metabolismul energetic celular, iar la bacteriile fotosintetizante procesul de fotosinteză.

Echipamentul enzimatic al bacteriilor este determinat genetic. Numărul enzimelor sintetizate de o celulă este identic cu numărul determinanților genetici din genomul său. Acesta, la *Escherichia coli* este de cca. 2000.

Desfășurarea metabolismului microbian în concordanță cu necesitățile celulei este posibilă datorită faptului că celula bacteriană posedă mecanisme de reglare, care în permanență, determină intrarea în activitate ori sistează activitatea unui set de enzime sau ajustează cantitatea relativă din fiecare enzimă în raport cu nevoile de moment ale celulei și ca răspuns la variațiile mediului extern.

Aproape toate enzimele catabolice se sintetizează în celula bacteriană numai în prezența, în mediu, a substanțelor asupra cărora acționează. Acestea sunt așa numitele ***enzime adaptative*** sau ***induse***. Substratul care induce sinteza lor poate fi o substanță plastică sau energetică, sau din contra, o substanță nocivă, a cărei descompunere enzimatică permite supraviețuirea celulei. De exemplu, penicilinaza este o enzimă indusă de prezența în mediu a penicilinei. Descompunerea penicilinei de către penicilinază determină supraviețuirea celulei la acțiunea acestui antibiotic (penicilinorezistența).

Alte enzime sunt sintetizate în celulă indiferent de compoziția chimică a mediului de cultură. Acestea se numesc ***enzime constitutive*** și sunt implicate, în special, în anabolism (***enzime anabolice***).

4.2.4. Acizii nucleici

Acizii nucleici îndeplinesc în celulă funcția esențială de stocare și transmitere a informației genetice utilizată pentru biosinteza tuturor proteinelor celulare.

ADN

Celula bacteriană conține ADN localizat în cromozom, sub forma unei singure molecule circulare, gigant, dublu helicală, cu greutate moleculară de circa 10^9 Da (0,4 x 10^9 la *Mycoplasma* sp., 2,8 x 10^9 la *Escherichia coli*).

Cantitatea de ADN din celula bacteriană reprezintă 2-5 % din greutatea uscată a celulei; ea este de 1000 ori mai mică decât cea conținută într-o celulă de mamifer și de 1000 ori mai mare decât cea dintr-un virion. În orice caz, cantitatea de ADN din celulă este o constantă biologică. Cantitatea fixă de ADN limitează numărul proteinelor și al moleculelor mai mici care pot fi sintetizate de o celulă.

Conținutul în baze purinice și pirimidinice al ADN-ului bacterian variază, funcție de grupul taxonomic, de la 30-70 % moli guanină (G) + citozină (C), 25-70 % adenină (A) și timină (T). Raportul A+T/G+C este caracteristic pentru fiecare specie bacteriană și are valoare taxonomică. ADN-ul îndeplinește un rol genetic esențial.

ARN

ARN-ul reprezintă 17 % din greutatea uscată a celulei bacteriene. Are localizare citoplasmatică și se găsește sub trei forme diferite, atât ca mărime a moleculei cât și ca rol funcțional, determinat de secvența bazelor din structura sa.

ARN – mesager (ARNm) reprezintă 1 % din cantitatea totală de ARN și este heterogen, prezentând circa 1000 de tipuri diferite. Are rolul de a prelua și transfera mesajul genetic conținut în ADN, în vederea biosintezei proteinelor. Are o viață scurtă, fiind degradat în 1-2 minute după sinteză, ceea ce înseamnă că într-o singură generație o celulă bacteriană sintetizează 12500-25000 molecule.

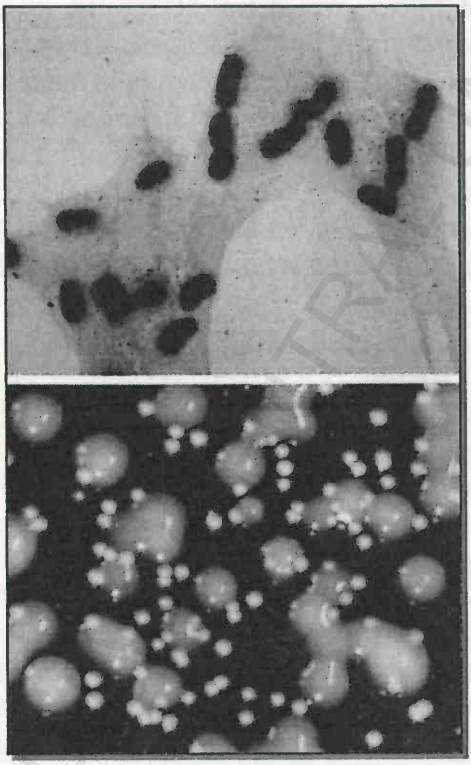
ARN – transportor (ARNt) este de mai multe tipuri, 1-4 tipuri pentru un aminoacid. Are rolul de a fixa aminoacizii și de a-i transfera la locul de biosinteză al proteinelor, adică la poliribozomi și de a-i încorpora în poziția specifică din secvența proteinei.

ARN – ribozomal (*ARNr*) constituie alături de proteine componentul principal al ribozomilor, care reprezintă sediul unde are loc biosinteza proteinelor celulare.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

5

NUTRIȚIA BACTERIANĂ



Xanthobacter autotrophicus

5.1. Necesități nutritive
5.2. Difuzia şi transportul substanțelor prin membranele celulare
5.3. Tipuri trofice
5.4. Tipuri particulare de nutriție

BCU TRANSILVANIA UNIVERSITY LIBRARY

5.1. NECESITĂȚI NUTRITIVE

Pentru creşterea şi multiplicarea lor, microorganismele necesită prezența în mediul înconjurător a unor substanțe nutritive care să conțină atât elementele chimice necesare pentru sinteza constituenților celulari şi activitatea enzimatică,cât şi substanțele necesare producerii de energie.

Elementele biogene întâlnite în structura oricărui sistem biologic pot fi împărțite în două categorii: bioelemente majore (macroelemente sau macronutrienți) şi bioelemente minore (microelemente sau micronutrienți).

5.1.1. Macroelemente (macronutrienți)

Pe lângă apă, care reprezintă, în medie, 75 % din greutatea celulei, bacteriile au nevoie de toate elementele care intră în compoziția chimică a celulei: O, H, C (sub formă de CO_2 sau compuşi organici), N (sub formă mai mult sau mai puțin oxidată sau redusă), P (sub formă de fosfați), S (în stare oxidată sau redusă) şi o serie de elemente minerale (K, Mg, Na, Cl, Fe, Ca), care sunt indispensabile menținerii stării fizico-chimice a celulei. Aceste elemente biogene numite şi ***macroelemente*** sau ***macronutrienți*** sunt necesare în concentrații mari şi îndeplinesc funcții esențiale în metabolismul microbian (Tabel V).

❖ *Carbonul*

Carbonul reprezintă aproximativ 50 % din greutatea uscată a bacteriilor, fiind elementul major dintre macroelemente. Studiile de nutriție au arătat că bacteriile pot asimila compuşi organici cu un număr variat de atomi de C, acesta reprezentând un constituent de bază al substanțelor organice celulare. Microorganismele pot utiliza aminoacizii, acizii organici, acizii graşi, glucidele, bazele azotate, compuşii aromatici şi în cantități mici şi alți compuşi organici. Unele procariote sunt autotrofe, capabile să folosească CO_2 ca unică sau principală sursă de carbon celular, în timp ce altele sunt heterotrofe, la care substanțele organice servesc ca sursă de C pentru biosinteze şi producerea de energie.

Nutriția heterotrofă poate fi simplă, ca la *Escherichia coli*, care poate fi cultivată pe medii de cultură ce conțin numai glucoză şi săruri minerale, sau complexă, ca la *Lactobacillus* sp., care are nevoie de o serie de compuşi organici, inclusiv de vitamine.

Tabel V – Macronutrienți necesari microorganismelor
(după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Element	Forma nutrientului în natură	Forma chimică suplimentată în mediul de cultură
Carbon (C)	CO_2, compuși organici	Glucoză, malat, acetat, piruvat, alți compuși sau amestecuri complexe (extract de drojdii, peptonă etc.)
Hidrogen (H)	H_2O, compuși organici	H_2O, compuși organici
Oxigen (O)	H_2O, O_2, compuși organici	H_2O, O_2, compuși organici
Azot (N)	NH_3, NO_3^-, N_2, compuși organici cu azot	Anorganici: NH_4Cl, $(NH_4)_2SO_4$, KNO_3, N_2 Organici: aminoacizi, baze azotate nucleotidice, numeroși compuși organici ce conțin N
Fosfor (P)	PO_4^{3-}	KH_2PO_4, Na_2HPO_4
Sulf (S)	H_2S, SO_4^{2-}, compuși organici cu S, sulfuri metalice (FeS, CuS, ZnS, NiS etc)	Na_2SO_4, $Na_2S_2O_3$, Na_2S, cisteină sau alți compuși organici cu sulf
Potasiu (K)	K^+ în soluție sau ca săruri de K diferite	KCl, KH_2PO_4
Magneziu (Mg)	Mg^{2+} în soluție sau ca săruri de Mg diferite	$MgCl_2$, $MgSO_4$
Calciu (Ca)	Ca^{2+} în soluție sau ca $CaSO_4$ sau alte săruri de Ca	$CaCl_2$
Fier (Fe)	Fe^{2+} sau Fe^{3+} în soluție sau ca FeS, $Fe(OH)_3$ sau alte săruri de Fe	$FeCl_3$, $FeSO_4$, variate soluții (Fe^{3+}, EDTA, Fe^{3+}citrat etc)

Spre deosebire de autotrofe, care sunt capabile să sintetizeze constituenții organici, pornind de la compuși anorganici simpli, heterotrofia implică incapacitatea de sinteză a unor metaboliți esențiali și, decurgând din aceasta, necesitatea de a-i găsi ca substanțe preformate în mediu. Unele microorganisme heterotrofe au nevoi specifice și nu se pot dezvolta decât în prezența unui singur compus organic, care le acoperă atât nevoile energetice cât și pe cele biosintetice. De exemplu, microorganismele celulozolitice utilizează numai celuloza, bacteriile metilotrofe folosesc numai metanul, metanolul, metilamina. Alte microorganisme, de exemplu, bacteriile din genul *Pseudomonas*, folosesc peste 200 compuși organici cu C (carbohidrați, polialcooli, acizi aminici,

B.C.U. „M. EMINESCU" IAȘI

acizi grași, compuși aromatici etc.), care pot fi folosiți ca precursori ai unor compuși organici, pe care nu sunt capabili să-i sintetizeze. Este probabil ca toate microorganismele heterotrofe să aibă nevoie și de CO_2 în cantități foarte mici pentru diferite reacții biosintetice. Dovada o constituie faptul că, îndepărtarea completă a CO_2 împiedică sau inhibă creșterea microorganismelor respective în medii organice. Cel mai adesea, nevoile de CO_2 sunt acoperite de însuși metabolismul normal al substanțelor organice, care produce cantități importante de CO_2, fapt care face ca, în cele mai multe cazuri, lipsa CO_2 din mediu să nu apară ca un factor limitativ al creșterii (Zarnea, 1984).

❖ *Azotul*

După carbon, azotul reprezintă un element important, fiind necesar în cantități mari, deoarece reprezintă aproximativ 12 % din greutatea uscată a celulei bacteriene. Azotul este elementul major din proteine, acizi nucleici și alți constituenți celulari. Este prezent în mod natural atât în compușii organici cât și cei anorganici.

Totuși, cea mai mare cantitate de azot din natură se găsește în compușii anorganici ca NO_2 sau în diferite combinații ca NH_3, nitrați sau nitriți. Sursa preferată de azot, utilizabilă de majoritatea microorganismelor este NH_3.

La microorganismele fixatoare de azot, acesta este redus inițial la NH_3, înainte de a fi încorporat în produși organici. De asemenea, microorganismele care folosesc nitrații îi convertesc la NH_3, forma accesibilă biosintezelor.

Dintre macronutrienții (macroelementele) prezenți în concentrații mai mici fac parte: P, S, K, Mg, Ca și Fe (Tabel V).

❖ **Fosforul** este prezent în natură atât sub formă organică cât și sub formă de fosfați anorganici. Intră în structura acizilor nucleici, a fosfolipidelor, a acizilor teichoici, a coenzimelor și a nucleotidelor (ATP, GTP, NAD^+, FAD).

❖ **Sulful** este necesar pentru sinteza unor aminoacizi (cisteină, metionină), a unor vitamine (tiamina, biotina), a acidului lipoic și coenzimei A. Sulful suferă transformări chimice în natură, realizate în exclusivitate cu ajutorul microorganismelor, fiind pus la dispoziția acestora sub o varietate de forme. De exemplu, multe microorganisme utilizează sulful sub formă anorganică de sulfați (SO_4^{2-}) sau sulfiți (HS^-).

- **Potasiul** este necesar tuturor microorganismelor, fiind un principal cation anorganic (K^+) celular. Reprezintă cofactor al unor enzime implicate în sinteza proteinelor.

- **Magneziul** reprezintă un cation celular (Mg^{2+}) important, cofactor al multor enzime (ex. kinazele). Este prezent la nivelul pereților celulari și a membranelor plasmatice. Are un rol important în legarea enzimelor de substraturi. Intră în constituția clorofilelor.

- **Calciul** este un important cation celular (Ca^{2+}), reprezentând și un cofactor al enzimelor. Intră în structura unor exoenzime (amilaze, proteaze etc.) și a dipicolinatului de calciu (care îndeplinește un rol important în termorezistența sporilor).

- **Fierul** joacă un rol major în respirația celulară. Ionii feros și feric fac parte din structura unor purtători redox, cum sunt citocromii, ferodoxinele și proteinele FeS, care sunt implicate în transportul electronilor. Cu toate că, cei mai mulți compuși anorganici ai fierului sunt insolubili, numeroase microorganisme produc factori specifici de legare ai fierului numiți siderofori, care solubilizează fierul și îl transportă în interiorul celulei. Un grup important de siderofori îl reprezintă derivatele acidului hidroxamic. La început, complexul Fe-hidroxamat ajunge în interiorul celulei, apoi Fe este eliberat iar hidroxamatul este eliminat din celulă și utilizat din nou pentru transportul fierului. Bacteriile cilindrice (*Escherichia coli* și *Salmonella typhimurium*) produc siderofori fenolici, cu o structură complexă numiți enterobactine.

5.1.2. Microelemente (micronutrienți)

Rolul micronutrienților în funcționarea celulei nu este chiar atât de important ca și în cazul macronutrienților. Micronutrienții (Zn, Mn, Na, Cl, Mo, Se, Co, Cu, W și Ni) sunt necesari în cantități foarte mici; unii (Zn și Mn) sunt bioelemente esențiale pentru toate microorganismele, în timp ce alții (Se, Mo, Co, Cu, W) joacă un rol important în activitățile metabolice.

În Tabelul VI sunt prezentați micronutrienții necesari microorganismelor și funcțiile metabolice pe care le realizează.

Tabel VI – Micronutrienți necesari microorganismelor
(după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Elementul	Funcția metabolică
Cobalt (Co)	Vitamina B_{12}, transcarboxilaza (la bacteriile acid propionice)
Cupru (Cu)	Unele proteine, implicații importante în respirație (citocrom c oxidaza) sau în fotosinteză (plastocianina, unele superoxid-dismutaze)
Mangan (Mn)	Activator a numeroase enzime, prezent în unele superoxid dismutaze și în enzimele unor fototrofe oxigenice
Molibden (Mo)	Prezent în diferite enzime flavinice, în nitrogenază, nitratreductază, urează
Nichel (Ni)	Numeroase hidrogenaze, coenzima F_{430} a metanogenezei, CO-dehidrogenază, urează
Seleniu (Se)	Formiat dehidrogenaza, unele hidrogenaze, aminoacidul selenocisteina
Tungsten (W)	Formiat dehidrogenaza, oxotransferazele de la hipertermofile (ex. feredoxin-oxidoreductaza de la *Pyrococus furiosus*)
Vanadiu (V)	Nitrogenaza, bromperoxidaza
Zinc (Zn)	Prezent în enzime ca anhidraze, alcool dehidrogenaze, ARN- și ADN-polimeraze, fosfatază alcalină, aldolază
Fier (Fe)	Citocromi, catalaze, peroxidaze, proteine cu Fe și S (ex. feredoxina), oxigenaze, toate nitrogenazele

Deoarece necesitățile microorganismelor în microelemente sunt mici, pentru cultivarea lor în laborator nu este întotdeauna necesar să se adauge aceste microelemente la mediile de cultură. Chiar dacă mediul de cultură conține substanțe chimice cu o mare puritate, poate apărea deficiența în microelemente. În aceste cazuri, adăugarea unei cantități mici dintr-o soluție cu microelemente poate satisface necesarul în metale al microorganismului respectiv.

5.1.3. Factori de creștere

Factorii de creștere sunt substanțe pe care microorganismele sunt incapabile să le sintetizeze în cursul metabolismului lor și în absența cărora multiplicarea lor este imposibilă. Ei nu sunt numai substanțe indispensabile vieții unor anumite microorganisme (care nu se pot dezvolta în lipsa lor), ci reprezintă metaboliți esențiali necesari tuturor microorganismelor (Zarnea, 1984).

La unele microorganisme, factorii de creștere sunt de origine endogenă, fiind elaborați prin biosinteză în cursul metabolismului

celular, astfel încât prezența lor în mediu ca substanțe preformate nu este necesară și ca urmare, exigențele bacteriene în această privință nu sunt evidente (*microorganisme prototrofe*). Microorganismele care nu au capacitatea de a sintetiza unul sau mai mulți dintre acești metaboliți esențiali nu pot trăi decât dacă mediul lor este suplimentat cu factorul (factorii) de creștere, pentru a căror sinteză facultățile lor metabolice sunt deficitare (*microorganisme auxotrofe*).

Factorii de creștere sunt necesari bacteriilor în concentrații infime și se comportă, în general, ca vitaminele pentru organismul animal. Cu toate acestea, factorii de creștere nu sunt numai catalizatori biologici deoarece, între anumite limite de concentrație, ei exercită asupra ritmului de multiplicare o acțiune proporțională cu concentrația lor. Acești factori există, în general, în mediile obișnuite pe bază de extract de carne sau extract de levuri, dar trebuie adăugați în mediile sintetice sau semisintetice.

În funcție de natura lor chimică, factorii de creștere pot fi grupați în trei categorii: vitamine, aminoacizi, purine și pirimidine.

- **Vitaminele** reprezintă factorii de creștere cei mai întâlniți, fiind necesari microorganismelor în cantități foarte mici (de ordinul a câtorva părți per milion, raportat la greutatea uscată a celulelor), deoarece ele funcționează ca precursori ai unor coenzime cu rol catalitic.

- **Aminoacizii** sunt necesari în cantități mai mari pentru a asigura creșterea microorganismelor, fiind folosiți în biosinteza proteinelor.

- **Purinele și pirimidinele** sunt utilizate pentru sinteza ARN-ului și ADN-ului, precum și a unor coenzime.

Bacteriile lactice, care includ genurile *Streptococcus, Lactobacillus, Leuconostoc* etc., sunt renumite pentru necesitățile lor în vitamine. În general, vitaminele care sunt cel mai frecvent utilizate pentru necesitățile nutritive ale microorganismelor sunt: tiamina (vitamina B_1), biotina (vitamina H sau B_8), piridoxina (vitamina B_6) și ciancobalamina (vitamina B_{12}).

În Tabelul VII sunt prezentați principalii factori de creștere întâlniți la bacterii și rolurile lor metabolice.

Tabel VII – Principalii factori de creştere la bacterii

Factorul de creştere	Specia bacteriană	Rolul în metabolism
Acid para-amino-benzoic	*Acetobacter suboxydans* *Clostridium acetobutylicum*	Precursor al acidului folic
Acid folic	*Lactobacillus casei* *Streptococcus faecalis* *Leuconostoc citrovorum*	Transferul grupării metil
Biotina (vitamina H sau B_8)	*Lactobacillus arabinosus* *Rhizobium trifolii* *Streptococcus faecalis*	Biosinteza acizilor graşi, unele reacţii de fixare a CO_2, β-decarboxilări
Acid nicotinic (niacină)	*Corynebacterium diphtheriae* *Lactobacillus arabinosus* *Proteus vulgaris*	Precursor al NAD^+, transferul electronilor în reacţiile de oxidoreducere
Ciancobalamina (vitamina B_{12})	*Lactobacillus lactis* *Lactobacillus leishmanii*	Reducerea şi transferul fragmentelor „C_1", sinteza deoxiribozei
Acid lipoic	*Streptococcus lactis*	Transferul grupărilor acil în decarboxilarea oxidativă a piruvatului şi a α-cetoglutaratului
Acid pantotenic	*Lactobacillus casei* *Proteus morganii*	Precursor al coenzimei A, activarea acetatului şi a altor radicali acil
Riboflavina (vitamina B_2)	*Lactobacillus casei,* *Streptococcus faecalis* *Clostridium tetani*	Precursor al FMN, FAD, rol în transportul electronilor
Tiamina (vitamina B_1)	*Lactobacillus fermenti* *Neisseria gonorrhoeae* *Streptococcus pneumoniae* *Staphylococcus aureus*	α-decarboxilări, grupare prostetică a transcetolazelor şi transaldolazelor
Piridoxina (vitamina B_6)	*Streptococcus faecalis* *Lactobacillus casei* *Clostridium welchii*	Metabolismul aminoacizilor şi cetoacizilor
Vitamina K	*Mycobacterium tuberculosis*	Transportul electronilor, sinteza sfingolipidelor

5.2. DIFUZIA ŞI TRANSPORTUL SUBSTANŢELOR PRIN MEMBRANELE CELULARE

Substanţele nutritive nu pot fi asimilate de către microorganisme decât după ce au pătruns în citoplasmă, traversând peretele celular şi membrana citoplasmatică. Cele mai multe dintre substanţele nutritive au moleculă mare, deci greutate moleculară mare şi pentru a pătrunde în

celulă trebuie, în prealabil, să fie descompuse în molecule cu greutate moleculară mică. Această funcție de descompunere este îndeplinită de enzimele hidrolitice (hidrolaze) elaborate de microorganisme în mediile de cultură. În urma hidrolizei substanțelor nutritive rezultă molecule mai mici, cum ar fi: mono- și dizaharidele (în cazul hidraților de carbon), peptidele și acizi aminici (în cazul proteinelor), acizi grași și glicerolul (în cazul lipidelor) etc.

Principalele ***mecanisme de transport*** ale substanțelor prin membrana citoplasmatică sunt:

- **Difuzia pasivă;**
- **Transportul cu ajutorul unor transportori** realizat prin: *difuzia facilitată, transportul activ și translocarea de grup.*

5.2.1. Difuzia pasivă

Produșii rezultați în urma hidrolizei pot pătrunde prin peretele celular și membrana citoplasmatică în mod pasiv, caz în care traversarea este lentă și singură nu poate asigura metabolismul celular. În cazul proceselor pasive, substanțele străbat membrana dinspre mediul cu concentrație crescută spre cel cu concentrație mică, fără consum de energie (ATP celular). Transportul se oprește când concentrația unei substanțe este aceeași de o parte și de alta a membranei.

Difuzia pasivă este limitată la apă și un grup mic de substanțe ca O_2, CO_2, acizii grași și substanțele liposolubile precum și unii ioni (Fig. 63)

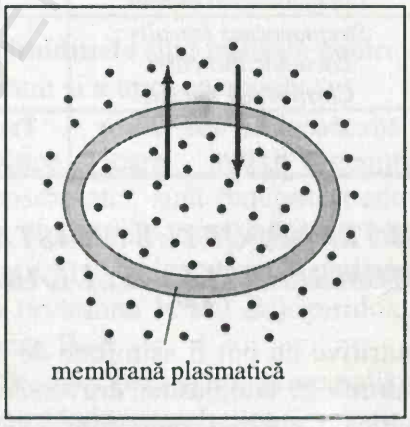


Fig. 63 – Reprezentarea schematică a difuziei pasive

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

5.2.2. Transportul cu ajutorul unor transportori

Mecanismele de transport prin transportori se realizează prin participarea unui transportor specific (carrier), aflat în membrana plasmatică, care fixează substanța și o transportă de cealaltă parte a membranei. Aceşti transportori sunt proteine.

Există trei tipuri de procese de transport mediate de proteine.

➢ ***Difuzia facilitată***

Se realizează ca şi difuzia pasivă, fără consum de energie, asigurându-se pe această cale transferul unor substanțe din exteriorul spre interiorul celulei. Spre deosebire de difuzia pasivă, procesul este favorizat de implicarea unor proteine prezente în membrana citoplasmatică numite proteine carrier. Difuzia are loc atâta timp cât între cele două suprafețe ale membranei citoplasmatice, concentrația substanțelor transportate este diferită, reuşind astfel să le concentreze în interiorul celulei (Fig. 64).

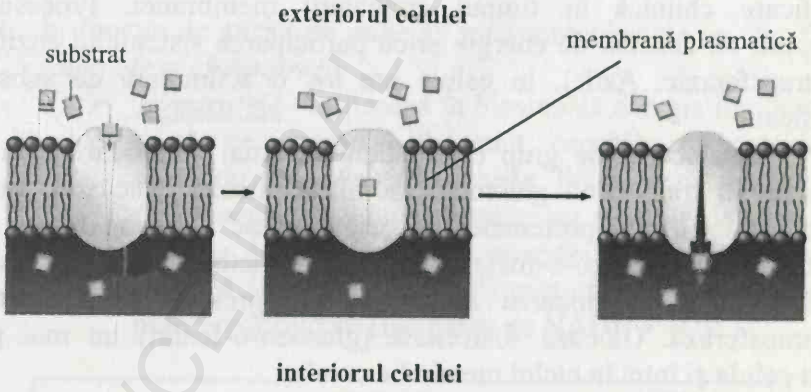


Fig. 64 – Reprezentarea schematică a difuziei facilitate

➢ ***Transportul activ***

Microorganismele şi-au structurat la nivelul membranei citoplasmatice agenți transportori specializați (proteine transportor sau permeaze), prin intermediul cărora substanțele rezultate din hidroliză sunt introduse rapid şi activ în celulă. În acest proces se realizează o acumulare a substanțelor în celulă, de sute sau chiar mii de ori mai mare față de mediul exterior (Fig. 65).

La bacterii transportul activ se realizează predominant pentru: glucide, aminoacizi şi săruri minerale.

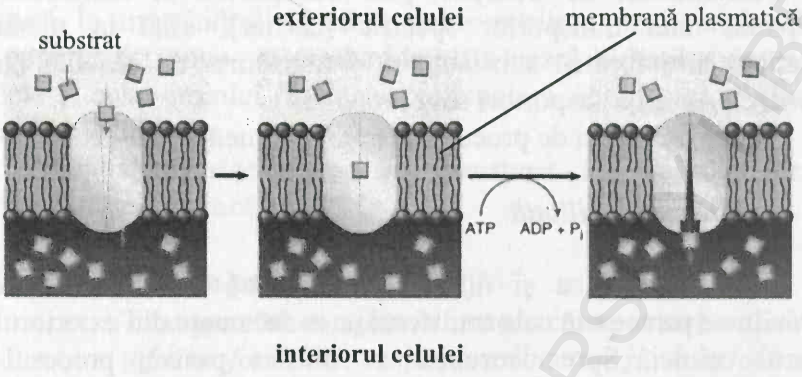


Fig. 65 – Reprezentarea schematică a transportului activ

➢ ***Translocarea de grup***

În translocarea de grup substanţele transferate în celulă suferă o modificare chimică în timpul străbaterii membranei. Procesul se realizează cu consum de energie şi cu participarea sistemului enzimatic fosfotransferazic. Astfel, în celulă are loc o acumulare de substanţă modificată.

Translocarea de grup este întâlnită numai la procariote şi este implicată în transportul glucidelor simple (glucoză, fructoză), care la bacterii, cu ajutorul proteinelor carrier, primesc un grup fosfat şi se transformă în glucozo-6-fosfat (respectiv, fructozo-1-fosfat). Energia necesară pentru adiţionarea fosfatului este preluată de la sistemul fosfotransferază. Glucoza fosforilată (glucozo-6-fosfat) nu mai poate părăsi celula şi intră în ciclul metabolic celular.

Procesul însă este mult mai complicat şi se petrece în două etape: prima etapă are loc în citoplasmă iar cea de a doua în membrana plasmatică (Fig. 66).

5.3. TIPURILE TROFICE

Microorganismele se caracterizează printr-o mare diversitate metabolică, multe dintre ele, având capacitatea de a se dezvolta pe substraturi anorganice, utilizând căi inaccesibile plantelor şi animalelor.

Există două criterii de bază, în funcţie de care microorganismele

pot fi împărțite în mai multe tipuri nutriționale: sursa de energie și sursa de carbon.

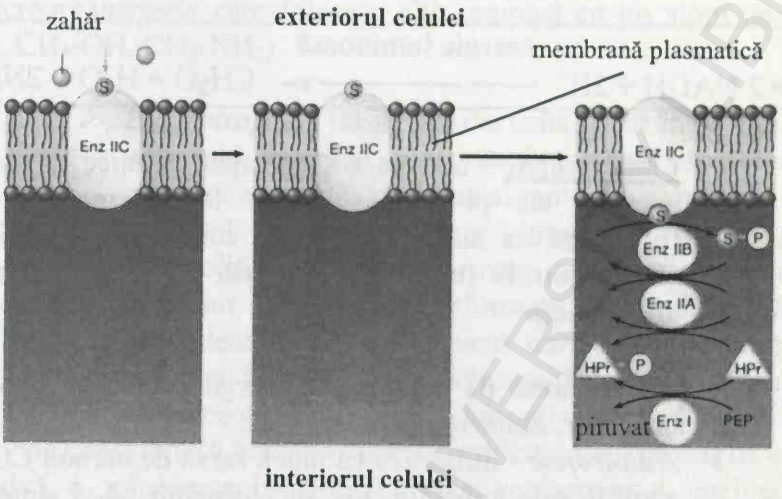
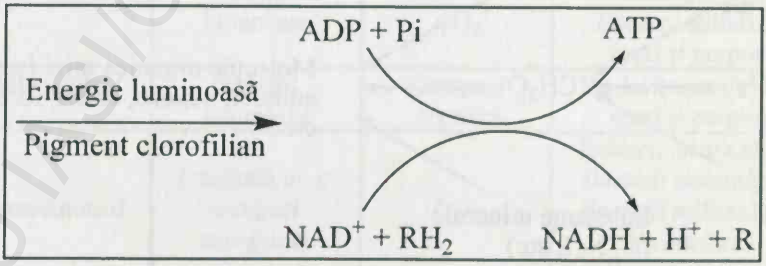


Fig. 66 – Reprezentarea schematică a translocării de grup

- În funcție de **sursa de energie** microorganismele se clasifică în ***fototrofe*** și ***chemotrofe***.
  - ***Fototrofele*** - utilizează în biosinteză energia luminoasă ca sursă de energie. Ele sunt capabile de fotosinteză, numindu-se și ***fotosintetizante***. Fotosinteza se realizează prin reacții fotochimice cuplate cu reacțiile de biosinteză. Reacția de transformare a energiei luminoase în energie chimică (formarea de ATP) este cuplată cu apariția unei puteri reducătoare (formarea de $NADH + H^+$):



Dacă la plantele verzi pigmentul clorofilian este clorofila a, donatorul de hidrogen este H_2O, degajându-se O_2, la bacteriile fotosintetizante pigmenții asimilatori sunt reprezentați de clorofilele

bacteriene şi carotenoizi, donatorul de hidrogen nu este apa, ci o altă sursă minerală (H_2S) sau organică şi nu se degajă niciodată O_2.

Reacția de biosinteză este:

$$CO_2 + 2\,NADH + 2H^+ \xrightarrow{\text{energie luminoasă}} CH_2O + H_2O + 2NAD^+$$

- ***Chemotrofele*** - utilizează substanțele chimice ca sursă de energie; ele pot fi la rândul lor chemoorganotrofe (utilizează ca sursă de energie compuşii organici) sau chemolitotrofe (utilizează ca sursă de energie compuşii anorganici).

- În funcție de **sursa de carbon** microorganismele se împart în două mari grupe: ***autotrofe*** şi ***heterotrofe.***
  - ***Autotrofele*** - utilizează ca unică sursă de carbon CO_2 sau sărurile sale minerale. Ele sunt capabile să-şi sintetizeze proprii constituenți organici structurali (proteine, glucide, lipide) sau funcționali (enzime, vitamine) exclusiv pe seama substanțelor minerale simple (CO_2, NH_4^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}, oligoelemente). Această imensă capacitate de sinteză presupune existența unui echipament enzimatic deosebit de complex şi variat, reclamă prezența unei surse de energie şi a unei puteri reducătoare (H_2) care să permită reducerea CO_2 (Fig. 67). Substanțele care furnizează puterea reducătoare necesară reducerii CO_2 sunt H_2O, H_2S, S etc.

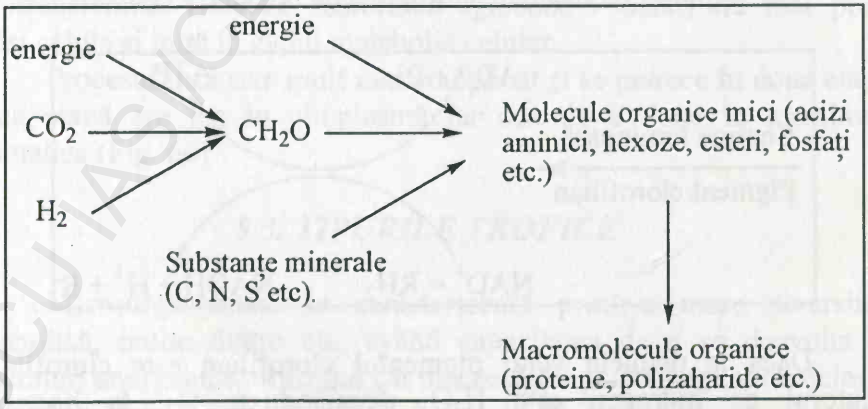


Fig. 67 – Capacitatea sintetică a bacteriilor autotrofe

BCU IAŞI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În ultima perioadă de timp conceptul de autotrofie este mai puțin restrictiv, în sensul că s-a propus ca în cadrul acestui concept să fie incluse atât microorganismele care asimilează CO_2 (autotrofe clasice) cât și microorganismele care folosesc alți compuși cu un atom de carbon (CH_4, CH_3-OH, CH_3-NH_2).

- ***Heterotrofele*** - nu se pot dezvolta decât în prezența unor substanțe organice ca sursă de carbon, deoarece și-au pierdut capacitatea de a folosi molecule simple, în special carbonul anorganic. Sunt incapabile să sintetizeze metaboliți esențiali, ca urmare, aceștia trebuie adăugați mediului ca substanțe preformate. Metabolismul lor este dependent de un echipament enzimatic mai simplificat, ceea ce le permite să folosească o serie de substanțe organice ca acizii aminici, hidrații de carbon etc.

Se consideră că heterotrofia este rezultatul unui proces de evoluție regresivă a microorganismelor, la care echipamentul enzimatic s-a simplificat, ceea ce a dus la incapacitatea de sinteză a metaboliților esențiali.

- Dacă se ia în considerare atât **sursa de energie** cât și **sursa de carbon** microorganismele pot fi clasificate în următoarele grupe: ***fotoautotrofe***, ***fotoheterotrofe***, ***chemoautotrofe***, ***chemoheterotrofe*** (Tabel VIII).

Tabel VIII - Principalele tipuri de nutriție la microorganisme

Tipul de nutriție	Sursa de energie	Sursa de carbon	Exemple
Fotoautotrof	Radiații luminoase	CO_2	Cianobacterii Bacterii sulfuroase verzi și purpurii
Fotoheterotrof	Radiații luminoase	Compuși organici	Bacterii nesulfuroase verzi și purpurii
Chemoautotrof	Oxidarea unor compuși anorganici	CO_2	Bacterii nitrificatoare Bacterii metanogene Bacterii sulfoxidante Ferobacterii Hidrogenbacterii
Chemoheterotrof	Oxidarea unor compuși organici	Compuși organici	Majoritatea bacteriilor, levurilor, fungilor

➢ ***Fotoautotrofele*** - utilizează lumina ca sursă de energie și CO_2 ca sursă principală de carbon. Procesul prin care fotoautotrofele transformă CO_2 și apa în hidrați de carbon și oxigen se numește *fotosinteză oxigenică* (în urma reacției rezultă și se elimină oxigen).

$$6\,CO_2 + 12\,H_2O \xrightarrow[\text{clorofilă}\ \text{enzime}]{\text{energie luminoasă}} C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 + 6\,H_2O$$

Principalul pigment utilizat de plante și cianobacterii în cursul fotosintezei oxigenice este *clorofila a.*

Există un grup restrâns de bacterii fotosintetizante, clasificate după modul în care realizează reducerea CO_2. Aceste bacterii nu pot utiliza apa pentru reducerea CO_2 și nu pot realiza fotosinteza când oxigenul este prezent (necesită condiții de anaerobioză), ca urmare, procesele fotosintetice nu sunt urmate de eliberarea oxigenului, fiind numite *anoxigenice.*

Bacteriile fotosintetizante anoxigenice aparțin la două familii: *Chlorobacteriaceae* și *Thiorhodaceae*, care cuprind bacterii sulfuroase anaerobe, ce trăiesc în mediile bogate în H_2S și S. Pentru ele, H_2S este principala sursă reducătoare pentru sintezele celulare, plecând de la CO_2, conform reacțiilor:

$$2H_2S + CO_2 \xrightarrow{\text{energie luminoasă}} CH_2O + H_2O + 2S$$

Când H_2S din mediu se epuizează S este oxidat la sulfați:

$$3\,CO_2 + 2\,S + 5\,H_2O \xrightarrow{\text{energie luminoasă}} 3\,CH_2O + 2\,SO_4^{2-} + 4\,H^+$$

Familia *Chlorobacteriaceae* (bacterii sulfuroase verzi), cu genul reprezentativ *Chlorobium*, utilizează sulful sau H_2S ca donator de H și acumulează granulele de sulf în jurul celulelor.

Familia *Thiorhodaceae* (bacterii sulfuroase purpurii), cu genul reprezentativ *Chromatium*, utilizează și ele sulful, H_2S și hidrogenul pentru reducerea CO_2; se disting de primele prin culoare și faptul că acumulează sulful în interiorul celulelor.

Principalul pigment asimilator al acestor bacterii este bacterioclorofila, care este capabilă să absoarbă radiații luminoase cu lungimi de undă mai mari decât în cazul clorofilei a. Bacterioclorofilele bacteriilor sulfuroase verzi sunt întâlnite în vezicule numite chlorozomi, ataşate de membrana plasmatică (sulful se depune extracelular), în timp ce la bacteriile sulfuroase purpurii, bacterioclorofilele sunt localizate în invaginările membranei citoplasmatice (sulful se depune intracitoplasmatic).

- ***Fotoheterotrofele*** - utilizează lumina ca sursă de energie, dar nu pot converti CO_2 în glucide. Ca sursă de carbon ele utilizează compuşii organici ca: alcooli, acizi organici şi hidraţi de carbon. Din acest grup fac parte bacteriile nesulfuroase verzi (genul *Chloroflexus*) şi purpurii (*Rhodopseudomonas*). Unele specii pot utiliza ca agent reducător hidrogenul:

$$CO_2 + 2H_2 \xrightarrow{\text{energie luminoasă}} CH_2O + H_2O$$

iar altele se pot dezvolta la întuneric, în anaerobioză, pe seama energiei furnizate de oxidarea unor substanțe organice reduse în aerobioză.

Aparatul fotosintetic al bacteriilor este reprezentat de **cromatofori**, structuri membranare analoage cloroplastelor. Cromatoforii bacterieni conțin bacterioclorofilă şi pigmenți carotenoizi. La *Thiorhodaceae* (bacterii fotosintetizante purpurii) bacterioclorofila este mascată de pigmenții carotenoizi purpurii, în timp ce la *Chlorobacteriaceae* (bacterii fotosintetizante verzi) carotenoizii sunt în cantități foarte mici.

Diferențele de structură chimică a bacterioclorofilelor şi prezența pigmenților carotenoizi determină şi diferențele spectrelor de absorbție. Bacterioclorofilele absorb radiații cu lungimi de undă apropiate de aceea a radiațiilor infraroşii, corespunzătoare unei zone a spectrului neperceptibilă pentru retina umană (Tabel IX).

Datorită acestui fapt, bacteriile fotosintetizante pot trăi în apele adânci, mâluri şi nămoluri. Utilizând în fotosinteză radiațiile infraroşii, ele asigură obținerea unui supliment de energie solară pe suprafața pământului.

În mediul acvatic există o relație de complementaritate între fotosinteza bacteriană şi cea algală. Algele, dezvoltându-se la suprafață,

în aerobioză, absorb în fotosinteză radiațiile albastre și roșii, în timp ce bacteriile realizează fotosinteza în anaerobioză, utilizând în adâncime radiațiile infraroșii. În felul acesta, toate radiațiile spectrului sunt utilizate în fotosinteză.

Tabel IX – Diferențele între bacteriile purpurii, verzi și cianobacterii

Grupul	Principalii donatori de electroni în fotosinteză	Relația față de O_2	Principalele clorofile	Spectrul de absorbție (nm)
Cianobacterii	H_2O	aerobe	clorofila a	670-685
Bacterii purpurii	H_2S și/sau compuși organici	majoritatea anaerobe	bacterioclorofila a sau b	810-1015
Bacterii verzi	H_2S și/sau compuși organici	anaerobe	bacterioclorofila c sau d	735-755

Mecanismul fotosintezei bacteriene este diferit de cel al plantelor verzi, în primul rând prin faptul că bacteriile nu pot realiza fotoliza apei și nu produc oxigen.

Fotosinteza bacteriană este un proces strict anaerob, iar bacteriile fotosintetizante sunt în majoritate și fixatoare de azot (ca și cianobacteriile). Fotosinteza este un proces cu importanță esențială, deoarece, în sens energetic, toate organismele vii sunt, în ultimă instanță, dependente de ea, ca unică formă de absorbție și fixare a energiei luminii, sursă a tuturor formelor de hrană și chiar a oxigenului pe planeta noastră. Microorganismele fotosintetizante aduc o contribuție importantă, în special, în bazinele acvatice, asigurând în natură prin biomasa lor o parte importantă din producția primară netă a acestora.

Microorganismele chemoautotrofe utilizează compușii anorganici ca sursă de energie și CO_2 ca sursă principală de C. Spre deosebire de microorganismele heterotrofe, chemoautotrofele prezintă dezavantaje legate de metabolismul energetic, în sensul că ele cresc slab și produc o cantitate mică de ATP, datorită randamentului energetic relativ scăzut al substratului anorganic pe care îl utilizează.

Din categoria microorganismelor chemoautotrofe fac parte următoarele grupe de bacterii:

- **bacteriile sulfuroase nepigmentate** - care obțin energia din oxidarea sulfului și a compușilor săi minerali; sunt larg răspândite în natură, în biotopuri bogate în H_2S și S (ex. apele sulfuroase,

nămolul, mâlul, apele de canal, minele de sulf etc.). Principalii reprezentanți ai acestui grup sunt:

a – sulfobacteriile filamentoase (*Beggiatoa*, *Thiotrix*, *Thioploca*) sunt bacterii aerobe care în urma oxidării H_2S depun sulf elementar în citoplasmă, iar în condițiile diminuării H_2S din mediu oxidează sulful citoplasmatic până la sulfați;

b – sulfobacteriile bacilare (*Thiobacillus*) oxidează formele reduse de sulfuri (H_2S, S, S_2O_3) cu depunerea extracelulară a sulfului oxidat extracelular.

- **ferobacteriile** (*Gallionella*, *Crenothrix*, *Leptothrix*) sunt răspândite în apele feruginoase; oxidează carbonatul de fier în hidroxid feric, care se depune în teaca mucilaginoasă.

- **bacteriile nitrificatoare,** aerobe, sunt răspândite în sol și ape, fiind agenții principali ai nitrificării; unele specii pot utiliza ca surse anorganice de energie amoniacul (*Nitrosomonas*) sau nitriții (*Nitrobacter*).

- **hidrogenbacteriile** (*Hydrogenomonas*) oxidează hidrogenul molecular.

- **bacteriile metanogene** (*Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanococcus*) sunt răspândite în nămoluri, mlaștini, apele de canal; sunt strict anaerobe, prezente și în rumenul rumegătoarelor, participând la degradarea anaerobă a celulozei; pot oxida compușii minerali sau substanțele organice simple.

- ***Chemoheterotrofele***

Spre deosebire de celelalte tipuri trofice, la care separarea sursei de energie de cea de carbon este netă, în cazul chemoheterotrofelor însă, această separare este dificil de făcut deoarece aceste bacterii folosesc substanțele organice atât ca sursă de carbon cât și de energie.

În funcție de natura substanțelor organice utilizate, chemoheterotrofele pot fi saprofite (utilizează materie organică moartă) sau parazite (folosesc nutrienții din organismele gazdă).

Din grupul microorganismelor heterotrofe fac parte majoritatea bacteriilor, levurilor și fungilor.

BCU MICROBIOLOGIE UNIVERSITY LIBRARY

5.4. TIPURI PARTICULARE DE NUTRIȚIE

MIXOTROFIA

Mixotrofia reprezintă o nutriție combinată, în care o specie bacteriană poate utiliza concomitent surse de carbon anorganic și organic.

Asocierea tipului de nutriție autotrof și heterotrof, atât în ceea ce privește substanțele necesare pentru biosinteze, cât și substanțele utilizate pentru producerea de energie, permite o mai bună adaptare a celulei bacteriene la condițiile în care nutrienții se găsesc în cantități limitate. De exemplu, la *Thiobacillus intermedius* rata de creștere și producerea de biomasă sunt mai mari în condiții de mixotrofie (mediu cu tiosulfat și extract de drojdii) decât în condiții autotrofe sau heterotrofe, cu concentrații echivalente de substrat (London, Rittenberg, 1968, cit. de Zarnea, 1984). Tiosulfatul și extractul de drojdii contribuie la producerea de energie, dar aproape tot carbonul celular derivă din extract

Acest tip de nutriție este avantajos pentru unele bacterii, oferindule surse alternative de existență, în funcție de substratul natural (mineral sau organic).

Mixotrofia reprezintă tipul de nutriție întâlnit cel mai frecvent în mediile naturale, în care diferitele grupe de microorganisme nu trăiesc niciodată izolat.

Nutrienții mixotrofi nu au un efect benefic atunci când sunt în exces, dar pot oferi un avantaj în condiții de limitare nutrițională. Microorganismele mixotrofe au un avantaj selectiv față de heterotrofe și de autotrofe, a căror creștere este limitată de cantități insuficiente de substanțe organice (anorganice).

SINTROFIA

Sintrofia reprezintă fenomenul de interacțiune nutrițională între două sau mai multe specii de microorganisme, care pot valorifica mai bine condițiile oferite de un substrat nutritiv, dacă se dezvoltă împreună. De exemplu, bacteriile metanogene nu pot folosi în mod direct glucoza ca sursă de carbon și energie, dar pot utiliza produșii rezultați din metabolizarea ei de către alte bacterii anaerobe.

Microorganismele capabile să-și sintetizeze constituenții celulari de la compuși simpli din mediu excretă cantități mici de vitamine, aminoacizi sau alți factori de creștere, în afara celulelor lor, unde pot fi folosite de alte microorganisme auxotrofe pentru substanțele respective.

Un astfel de fenomen a fost descris la bacteria *Haemophilus influenzae*, care cultivată pe geloză-sânge formează colonii mici, punctiforme şi transparente. În vecinătatea coloniilor de *Staphylococcus* sp., care contaminează accidental mediul de cultură, coloniile devin mai mari, mai voluminoase, deoarece stafilococul este capabil să facă sinteza NAD^+, pe care îl excretă în mediu, permițând astfel bacteriei *Haemophilus influenzae* să se dezvolte mult mai abundent.

OLIGOTROFIA

Este tipul de nutriție întâlnit la microorganismele care se dezvoltă în mediile foarte sărace în substanțe nutritive.

Microorganismele oligotrofe pot creşte pe medii de cultură ce conțin numai 5-10 mg C/l, spre deosebire de microorganismele copiotrofe, care se dezvoltă numai pe mediile foarte bogate în nutrienți. De exemplu, bacteriile acvatice, care trăiesc în apele sărace în substanțe nutritive sunt inhibate dacă se cultivă pe mediile bogate în nutrienți, datorită efectului toxic al produşilor de catabolism (ex. H_2O_2), care în urma acumulării în mediu determină liza celulelor.

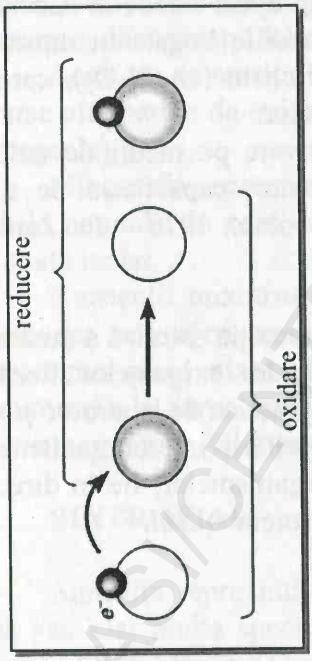
Există şi bacterii oligotrofe care, cultivate pe medii de cultură sărace, pot dobândi (spontan sau prin adaptare) capacitatea de a se dezvolta pe medii mai bogate (Y. Anagita şi colab., 1978 – cit. Zarnea, 1984).

Cunoaşterea condițiilor de cultură (compoziția chimică a mediului de cultură, pH-ul, aerarea etc.), corespunzătoare exigențelor fiecărui microorganism, are o importanță deosebită în practica de laborator şi cea industrială deoarece ajută la prevenirea dezvoltării microorganismelor nedorite şi permite reglarea activității microorganismelor, fie în direcția obținerii de biomasă, fie a unor produşi utili de metabolism.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

6

METABOLISMUL BACTERIAN



Oxidoreducere
- reprezentare schematică -

6.1. Definiție. Trăsături generale
6.2. Căile metabolice
6.3. Catabolismul hidraților de carbon
6.4. Bilanțul energetic al proceselor de oxidoreducere biologică
6.5. Catabolismul lipidic şi proteic
6.6. Anabolismul

BCU IAŞI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

6.1. DEFINIȚIE. TRĂSĂTURI GENERALE

Metabolismul reprezintă totalitatea reacțiilor biochimice din activitatea biologică a celulei microbiene, prin care elementele biogene sunt preluate din mediu și transformate în constituenți celulari, energie și produși de metabolism.

Căile metabolice centrale ale bacteriilor folosesc mecanisme comune cu ale organismele superioare, majoritatea acestora fiind descoperite inițial la microorganisme și apoi extrapolate la organismele superioare.

Cu toate acestea, există o serie de particularități specifice microorganismelor, determinate de caracteristicile acestui grup și anume:

1. Natura și diversitatea nutrienților folosiți

Microorganismele sunt tipic omnivore, putându-și realiza metabolismul, folosind ca nutrienți o mare diversitate de substanțe, pornind de la substanțe anorganice simple ca N_2, CO_2, S, NH_3, până la substanțe organice complexe. Aproape orice substanță din mediu, organică sau anorganică, din care se poate obține energie, este accesibilă metabolismului bacterian. Există tulpini de microorganisme omnivore care pot utiliza drept sursă de carbon un număr mare de compuși organici, începând cu compuși organici cu doi atomi de carbon (acetat, etanol) până la compuși complecși ca: polizaharide, proteine și chiar compuși aromatici. Există totuși la bacterii și mari diferențe individuale, în sensul că unele folosesc o gamă largă de nutrienți, în timp ce altele sunt foarte specializate (de exemplu, *Pseudomonas multivorans* poate utiliza 95 compuși, în timp ce metanobacteriile, respectiv *Methanomonas methanica,* nu utilizează decât metanul ca unică sursă de carbon și energie).

2. Plasticitatea metabolismului bacterian

Metabolismul bacterian se caracterizează printr-o mare plasticitate, putând să se adapteze exigențelor mediului înconjurător, datorită prezenței în celula microbiană a unor căi alternative de realizare a proceselor de catabolism și biosinteză. De exemplu, *Escherichia coli,* datorită complexității echipamentului enzimatic pe care îl posedă, utilizează nu numai glucoza și amoniacul drept sursă de carbon și azot, ci și o gamă largă de nutrienți, incluzând diferite alte glucide, glicerol, etanol, acetat, purine, pirimidine, aminoacizi.

3. *Intensitatea metabolismului bacterian*

Metabolismul bacterian se desfăşoară cu o intensitate excepţională, în comparaţie cu a organismelor superioare. Ritmul de multiplicare la o serie de specii bacteriene este de o generaţie la fiecare 20 minute, în timp ce la celulele mamiferelor, chiar în condiţii de cultură *in vitro*, durează cel puţin 24 ore. Activitatea respiratorie a unui grup de bacterii aerobe este de câteva sute de ori mai intensă decât a omului. Un gram de celule de *Micrococcus ureae* descompune 180-1200 g uree/oră, iar un gram de bacterii lactice poate hidroliza 178-14.890 g lactoză/oră, ceea ce înseamnă că celulele bacteriene pot metaboliza într-o oră o cantitate de substanţă ce depăşeşte de 1000-1500 ori greutatea biomasei bacteriene. Comparabil cu bacteriile, omul ar trebui să consume şi să metabolizeze mai multe tone de alimente/oră. Această capacitate, în cazul biosintezelor de proteine, asociată cu capacitatea mare de multiplicare, explică utilizarea bacteriilor în obţinerea de biomasă bacteriană, ca sursă neconvenţională de proteine. Cunoaşterea metabolismului bacterian pe lângă importanţa teoretică prezintă şi o deosebită importanţă practică, legată de posibilitatea de a coordona biosintezele microbiene şi de a realiza procese industriale dirijate.

6.2. CĂILE METABOLICE

Microorganismele sunt echipate cu o serie de sisteme şi mecanisme celulare, pe baza cărora reacţiile biochimice celulare care au loc pot să le pună la dispoziţie energie şi elemente biogene. Acestea sunt preluate din mediu şi sunt utilizate apoi în procesele de biosinteză a propriilor constituenţi celulari.

Toate procesele celulare se realizează printr-o reţea variată şi complicată, care formează **căile metabolice celulare**. Acestea sunt deci secvenţe de reacţii chimice, catalizate enzimatic şi care permit microorganismelor să-şi obţină sursele nutritive, compuşii necesari propriilor sinteze, precum şi energia necesară realizării acestora.

La microorganisme se cunosc patru tipuri de căi metabolice: catabolice, anabolice, amfibolice şi anaplerotice.

Căile catabolice sau de degradare reprezintă o succesiune de căi metabolice, în care se realizează degradarea substanţelor nutritive din mediu, cu eliberarea de energie folosită în desfăşurarea proceselor celulare. Acest lanţ de reacţii poartă numele de reacţii catabolice, iar produşii rezultaţi se numesc cataboliţi (Fig. 68).

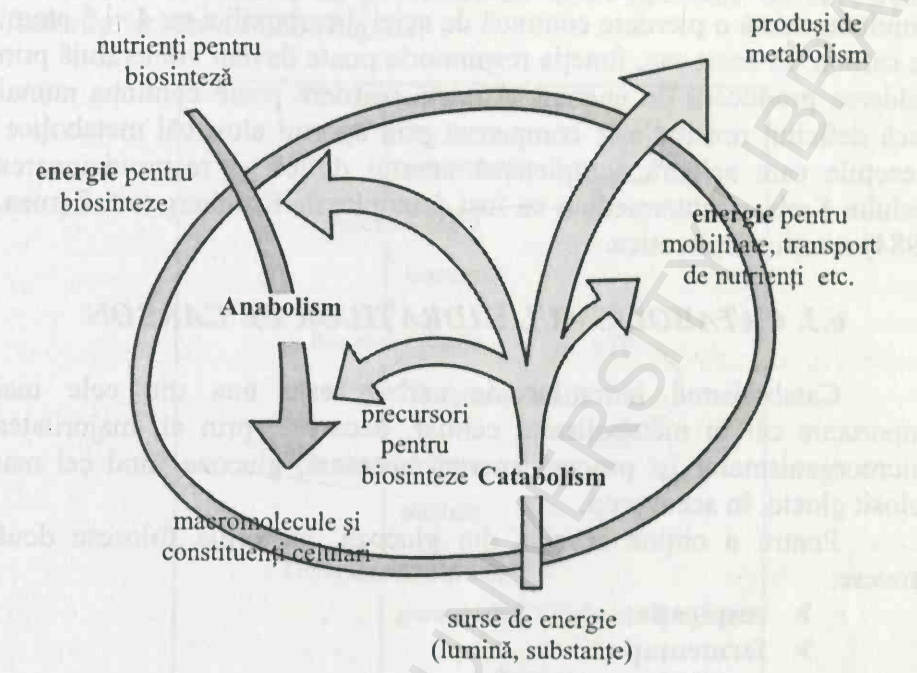


Fig. 68 – Căile metabolice într-o celulă bacteriană

Căile anabolice sau de sinteză reprezintă, de asemenea, o multitudine de reacții metabolice prin care intermediarii căilor centrale de metabolism sunt integrați în procesele de biosinteză a unor componenți macromoleculari celulari. Multe specii microbiene își sintetizează materialul celular, pornind de la compuși simpli, motiv pentru care pot fi considerate din punct de vedere al capacității biosintetice, cele mai complete organisme (Fig. 68).

Căile amfibolice sunt acele căi metabolice care îndeplinesc simultan funcția de eliberare a energiei și cea de furnizare a unor precursori pentru biosinteză (de exemplu, calea glicolitică și ciclul Krebs). Ciclul Krebs (ciclul acizilor tricarboxilici) poate iniția atât biosinteza unor aminoacizi (acid glutamic, aspartic, treonină, izoleucină, metionină), folosiți în continuare pentru sinteza proteinelor, cât și energia necesară acestor biosinteze.

Căile anaplerotice au rolul de a asigura reaprovizionarea permanentă cu intermediari ai căilor amfibolice, care sunt în permanență îndepărtați în procesele metabolice. Deoarece reacțiile producătoare de

energie şi cele de furnizare a precursorilor pentru biosinteze au loc simultan, există o pierdere continuă de acizi dicarboxilici cu 4 şi 5 atomi de carbon. În acest caz, funcţia respiratorie poate deveni vulnerabilă prin scăderea producerii de energie. Această pierdere poate continua numai dacă deficitul rezultat este compensat prin aportul altor căi metabolice. Reacţiile care asigură completarea acestui deficit şi reaprovizionarea ciclului Krebs cu intermediari au fost denumite de Kornberg (cit. Zarnea, 1984) reacţii anaplerotice.

6.3. CATABOLISMUL HIDRAŢILOR DE CARBON

Catabolismul hidraţilor de carbon este una din cele mai importante căi în metabolismul celular, deoarece, prin el, majoritatea microorganismelor îşi procură energia necesară, glucoza fiind cel mai folosit glucid, în acest scop.

Pentru a obţine energia din glucoză, bacteriile folosesc două procese:

- **respiraţia;**
- **fermentaţia.**

6.3.1. Respiraţia celulară

Este un proces de oxidoreducere biologică, generator de ATP, în care acceptorul final de electroni este o moleculă anorganică:

- în **respiraţia aerobă** acceptorul de electroni este oxigenul;
- în **respiraţia anerobă** acceptorul final este o moleculă anorganică, oricare alta în afară de oxigen, ionul nitrat (NO_3^-), sulfat (SO_4^{2-}) etc.

În procesul de respiraţie, catabolismul glucozei urmează trei etape principale: glicoliza, ciclul acizilor tricarboxilici şi lanţul transportor de electroni.

- **Glicoliza (calea Embden-Meyerhof - EM)** este comună atât procariotelor cât şi eucariotelor. Ea se desfăşoară în lipsa oxigenului.

Glicoliza reprezintă fragmentarea glucozei în două molecule cu câte trei atomi de carbon, proces care se desfăşoară cu degajare de energie. Aceste două molecule sunt apoi oxidate şi grupate, pentru a forma două molecule de acid piruvic, care este metabolizat ulterior pe căi diferite funcţie de grupul de microorganisme. În cursul glicolizei, NAD^+

este redus în NADH, cu producere de două molecule de ATP, prin fosforilarea substratului (Fig. 69)

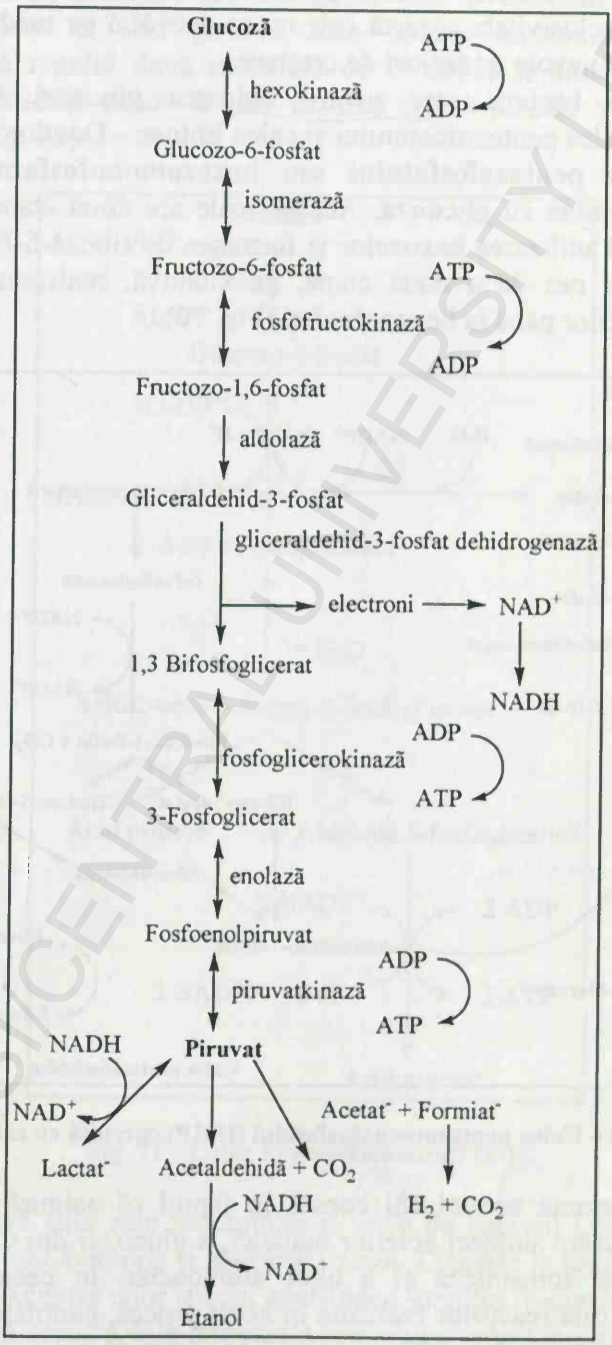


Fig. 69 – Calea glicolizei (Embden-Meyerhof)

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Calea glicolitică este utilizată de către bacteriile care produc diverse fermentaţii (homolactică, propionică, butirică), enterobacterii şi levurile care realizează fermentaţia alcoolică. Microorganismele care folosesc în exclusivitate această cale nu se dezvoltă pe medii de cultură simple, având nevoie de factori de creştere.

Există bacterii care pentru oxidarea glucozei folosesc căi alternative: calea pentozofosfatului şi calea Entner – Doudoroff (ED).

Calea pentozofosfatului sau **hexozomonofosfatului (HMP)** operează simultan cu glicoliza. Această cale are două etape principale: prima asigură utilizarea hexozelor şi formarea de riboză-5-P, fiind etapa oxidativă, iar cea de a doua etapă, neoxidativă, realizează conversia pentozofosfaţilor până la hexozofosfaţi (Fig. 70).

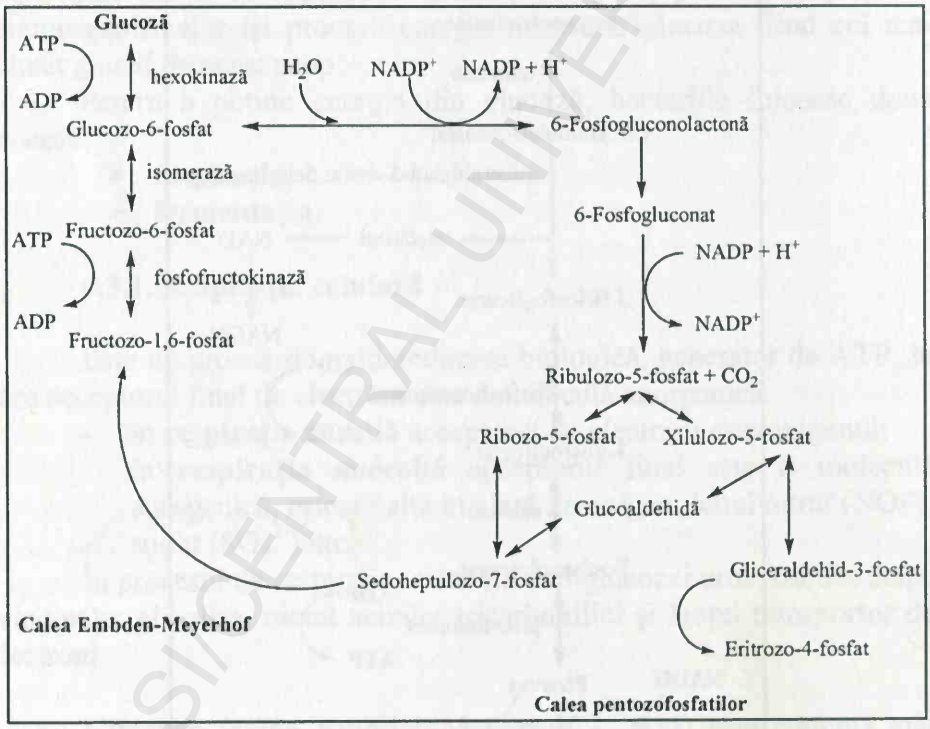


Fig. 70 – Calea pentozomonofosfatului (HMP) corelată cu calea EM

Importanţa acestei căi constă în faptul că asigură formarea de pentoze necesare sintezei acizilor nucleici, a glucozei din CO_2, în cursul procesului de fotosinteză şi a unor aminoacizi. În ceea ce priveşte energia, în urma reacţiilor realizate în acest proces, cantitatea de energie formată este la jumătate faţă de calea EM. Această cale este folosită de

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ

următoarele specii bacteriene: *Bacillus subtilis*, *Leuconostoc mesenteroides* şi *Streptococcus faecalis*.

Calea Entner-Doudoroff (ED) este o alternativă a oxidării glucozei până la acid piruvic. Din fiecare moleculă de glucoză metabolizată rezultă două molecule de NADPH şi două molecule de ATP. Ca produşi finali ai căii rezultă acidul piruvic şi aldehida-3P glicerică (Fig. 71).

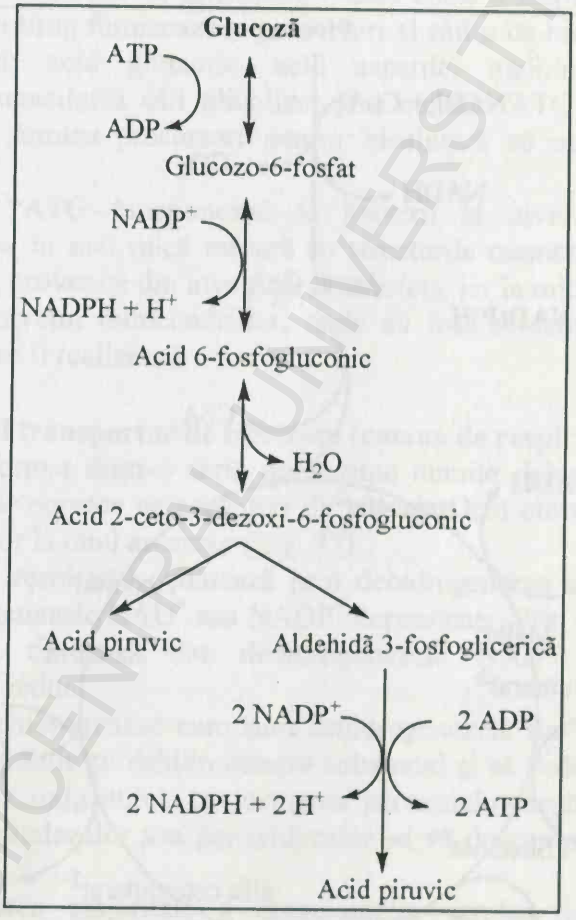


Fig. 71 – Calea Entner-Doudoroff (ED)

Această cale este întâlnită la o serie de bacterii Gram-negative: *Rhizobium*, *Pseudomonas* şi *Agrobacterium*. Lipseşte la bacteriile Gram-pozitive, cu excepţia unor specii, aparţinând genului *Nocardia*. Bacteriile care utilizează această cale reprezintă probabil o evoluţie separată faţă de celelalte bacterii.

BCU IAŞI CENTRALĂ UNIVERSITY LIBRARY

Căile EM, HMP şi ED pot fi folosite alternativ sau în diferite combinaţii, în funcţie de anumite necesităţi ale metabolismului.

- **Ciclul acizilor tricarboxilici (ATC)** numit şi **ciclul Krebs** reprezintă calea de oxidare complet aerobă a glucozei, respectiv a acetatului, provenit nu numai din glicoliză ci şi din β-oxidarea acizilor graşi sau a unor aminoacizi (Fig. 72).

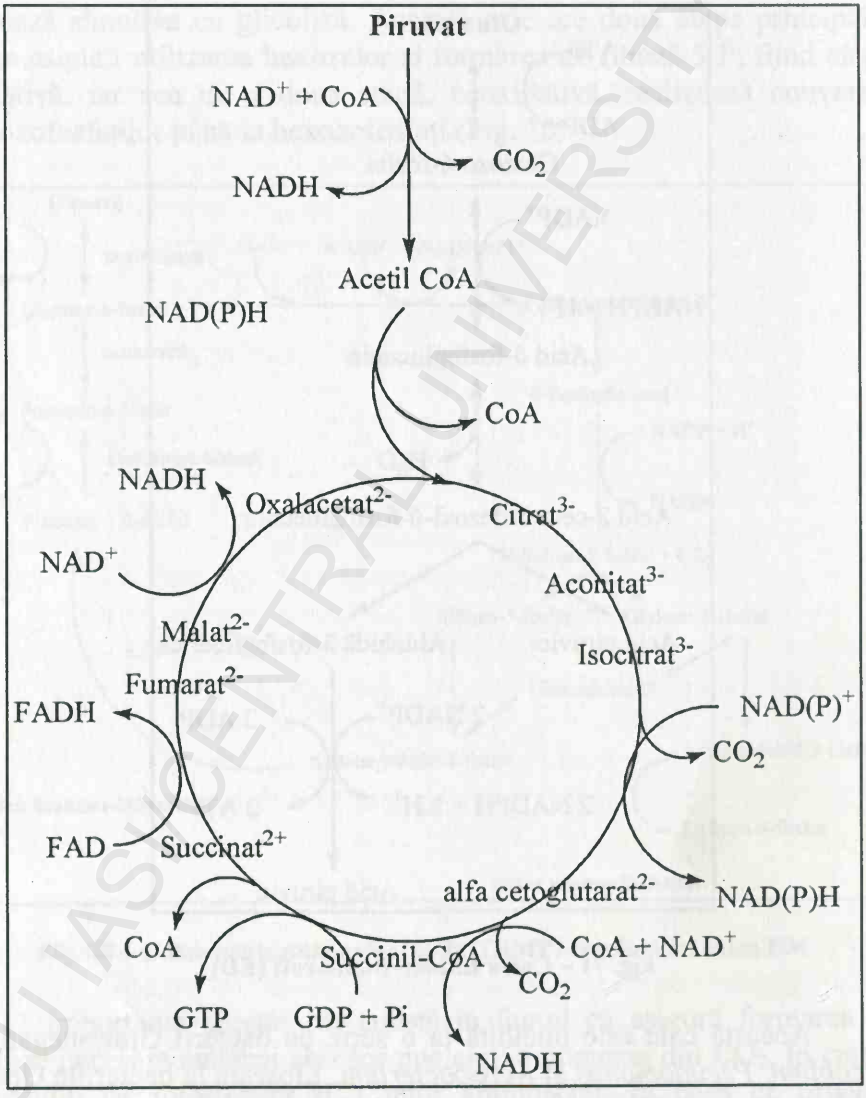


Fig. 72 – Ciclul acizilor tricarboxilici (ATC)

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În ansamblu, ciclul este format dintr-o serie de reacţii enzimatice care asigură oxidarea acetil-Co A la CO_2, iar hidrogenul care devine disponibil după această oxidare este conservat sub formă de enzime reduse. Electronii şi protonii acceptaţi de la piruvat sunt transportaţi spre oxigenul molecular.

Ciclul ATC ca şi calea glicolizei îndeplinesc un rol important în metabolismul celular, fiind, prin energia eliberată (doi moli ATP în ciclul Krebs şi doi moli ATP în glicoliză), o cale cheie a respiraţiei celulare, care în acelaşi timp furnizează şi precursori ai căilor de biosinteză a unor acizi aminici: acid glutamic, acid aspartic, treonină, izoleucină, metionină. Capacitatea căii glicolizei şi a ciclului ATC de a produce energie şi a furniza precursori pentru biosinteză se numeşte funcţie amfibolică.

Ciclul ATC funcţionează la bacterii la nivelul membranei citoplasmatice, în mai mică măsură în structurile membranare de tipul mezozomilor, provenite din invaginarea acesteia, iar la microorganismele eucariote la nivelul mitocondriilor, unde au fost evidenţiate sistemele enzimatice care îl realizează.

- **Lanţul transportor de electroni (catena de respiraţie celulară)**

Este format dintr-o serie de enzime numite dehidrogenaze, ale căror coenzime servesc ca acceptori de hidrogen sau electroni, de la un substrat donator la unul acceptor (Fig. 73).

Lanţul respirator debutează prin dehidrogenarea substratului de către dehidrogenazele NAD^+ sau $NADP^+$ dependente. Prin dehidrogenare substratul se oxidează, iar dehidrogenazele NAD^+ sau $NADP^+$ dependente se reduc.

Alte dehidrogenaze cum sunt dehidrogenazele flavinice (FAD şi FMN) sunt capabile să dehidrogeneze substratul şi să cedeze atomul de hidrogen direct oxigenului, cu formarea peroxidului de hidrogen, care sub acţiunea catalazelor sau peroxidazelor se va descompune în apă şi oxigen.

La marea majoritate a organismelor aerobe flavin-enzimele îndeplinesc rolul de transportor de electroni între dehidrogenazele NAD^+ şi $NADP^+$ dependente şi lanţul citocromic. Flavin-enzimele reduse cedează atomii de hidrogen ubiquinonei (coenzima Q) redusă, la rândul ei va fi reoxidată după o prealabilă disociere a hidrogenului în 2 e^- şi 2 H^+ şi prin transferul electronilor lanţului citocromic (cit b → cit c → cit a → cit a_3 (citocromoxidaza). Ultimul citocrom (cit a_3) cedează electronii oxigenului molecular care se reduce, devine oxigen ionic (O^{2-}), care reacţionează cu protonii din mediul celular, formând molecula de apă

metabolică. Pentru fiecare moleculă de apă formată rezultă 3 moli de ATP.

La bacteriile strict aerobe sistemul citocromic este complet, la cele facultativ anaerobe se întâlneşte numai unul sau doi citocromi, în timp ce la bacteriile anaerobe citocromii lipsesc.

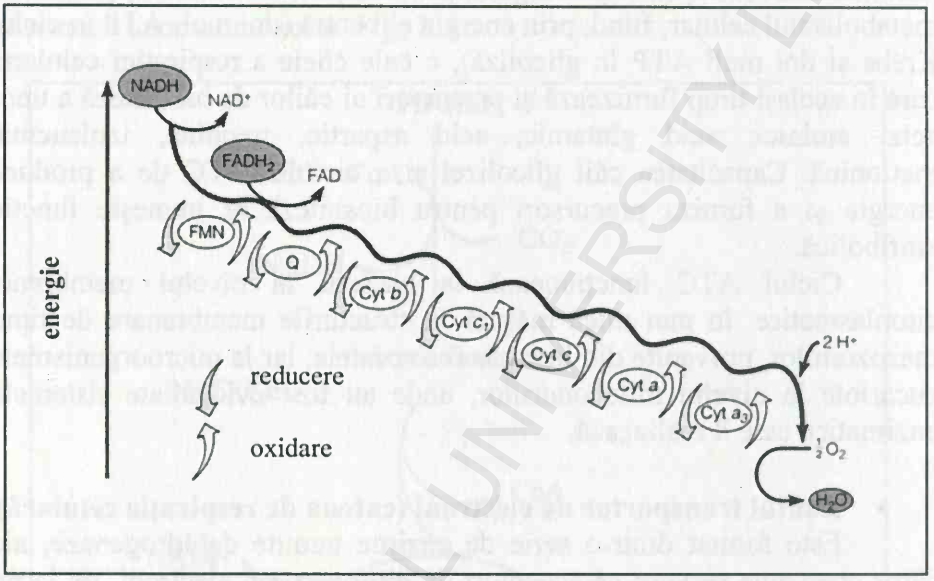


Fig. 73 – Lanţul transportorilor de electroni

Transferul de electroni poartă şi numele de fosforilare oxidativă, fiind importantă prin energia ce se eliberează în cursul oxidării metaboliţilor şi care este înmagazinată sub formă de ATP.

În întregul proces de respiraţie aerobă la procariote, dintr-o moleculă de glucoză metabolizată rezultă 38 molecule ATP: la cele 34 molecule provenite din lanţul transportorilor de electroni se adaugă 4 molecule generate în cursul glicolizei şi a ciclului Krebs (Fig. 74).

La procariote catena de respiraţie celulară se află localizată în membrana citoplasmatică şi mezozomi.

Respiraţia anaerobă este un tip de respiraţie celulară în care acceptorul final de electroni este orice altă substanţă anorganică în afară de oxigen. Donatorul de electroni poate fi o substanţă anorganică sau organică, iar ca acceptor pot fi: nitraţii, sulfaţii, carbonaţii sau CO_2. Respiraţia anaerobă se întâlneşte numai la bacterii, în special la trei grupe fiziologice: bacteriile denitrificatoare, sulfatreducătoare şi metanogene.

BUCHAREST UNIVERSITY LIBRARY

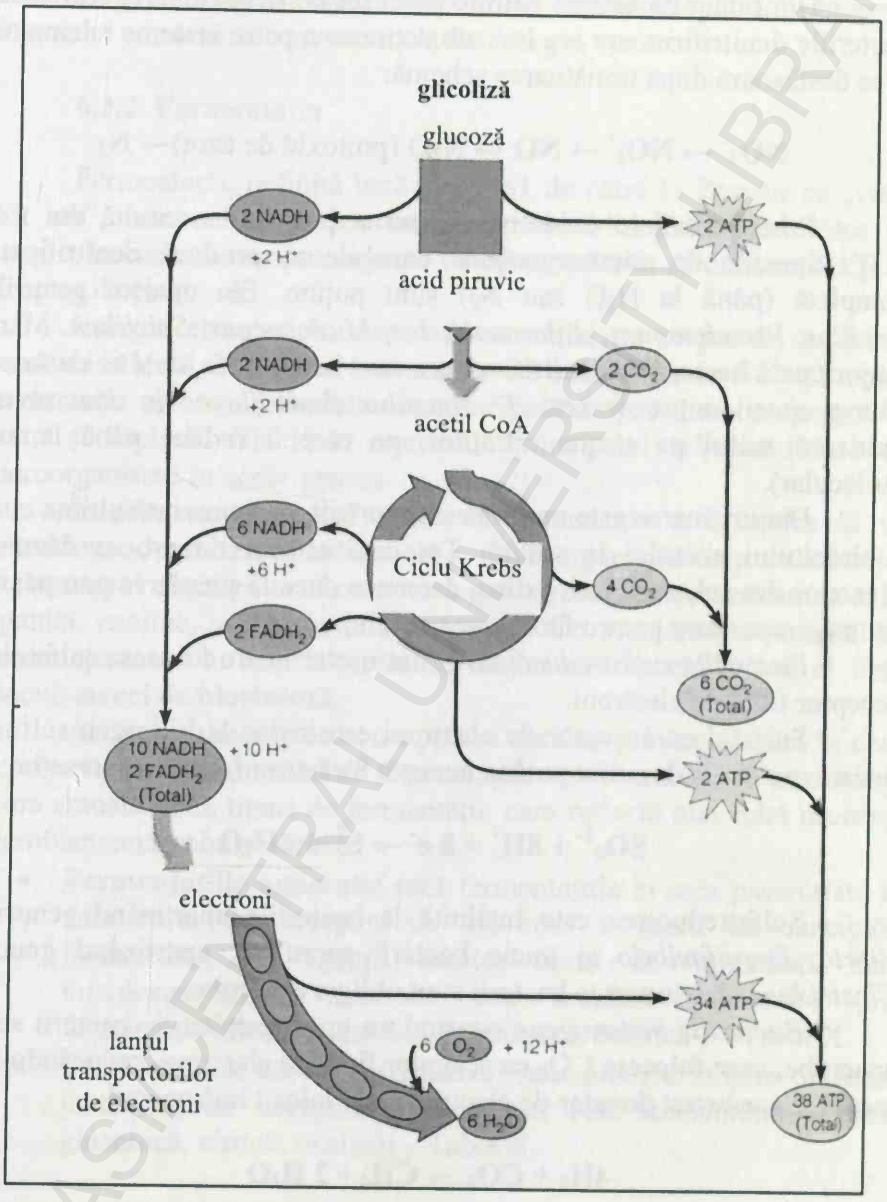


Fig. 74 – Reprezentarea schematică a respirației aerobe la procariote

Bacteriile denitrificatoare sunt bacterii facultativ anaerobe, ele putând transfera electronii la oxigen, când acesta este prezent în mediu sau la nitrați când oxigenul este absent.

BCU ASSIA CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Din punct de vedere chimic procesul de denitrificare, realizat de bacteriile denitrificatoare are loc sub acţiunea a patru sisteme enzimatice şi se desfăşoară după următoarea schemă:

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \text{ (protoxid de azot)} \rightarrow N_2$$

Prin fosforilare oxidativă, în urma procesului rezultă doi moli ATP. Speciile de microorganisme capabile să producă denitrificarea completă (până la N_2O sau N_2) sunt puţine. Ele aparţin genurilor *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Spirillum*. Marea majoritate a bacteriilor denitrificatoare sunt heterotrofe, deşi se cunosc şi câteva specii autotrofe (ex. *Thiobacillus denitrificans* în anaerobioză oxidează sulful pe seama nitraţilor, pe care îi reduce până la azot molecular).

Denitrificarea este un proces important, el reprezintă ultima etapă a circuitului azotului în natură. Totodată este şi un proces dăunător plantelor din sol, dacă este extins, deoarece duce la pierderea compuşilor azotaţi, importanţi pentru fertilizarea solului.

Bacteriile sulfatreducătoare sunt bacterii care folosesc sulfatul ca acceptor final de electroni.

Sulfatul ca acceptor de electroni este redus la hidrogen sulfurat, fiecare moleculă de sulfat putând accepta 8 electroni, conform reacţiei:

$$SO_4^{2-} + 8H^+ + 8\,e^- \rightarrow S^{2-} + 4H_2O$$

Sulfatreducerea este întâlnită la bacteriile aparţinând genurilor *Vibrio*, *Desulfovibrio* şi unele bacterii sporulate, aparţinând genului *Clostridium*. Toate aceste bacterii sunt obligat anaerobe.

Bacteriile metanogene cuprind un grup restrâns de bacterii strict anaerobe, care folosesc CO_2 ca acceptor final de electroni, reducându-l la metan. Ca substrat donator de electroni este folosit hidrogenul:

$$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2\,H_2O$$

Ele nu au citocromi, în schimb au un conţinut ridicat de vitamina B_{12} şi acid folic, care sub formă de coenzime joacă un rol important în procesul de reducere. Energia eliberată prin reducerea CO_2 la metan duce la formarea de 2 moli ATP/1 mol CO_2 redus.

Reprezentanţii acestui grup de bacterii aparţin grupului *Methanogenic Archaeobacteria* (Bergey's Manual of Systematic

Bacteriology, 1984) şi sunt folosite în biotehnologii la obţinerea biogazului ca sursă neconvenţională de energie.

6.3.2. Fermentaţia

Fermentaţia, definită încă din 1861 de către L. Pasteur ca „viaţă fără aer", este un proces de oxidoreducere biologică, producător de energie, în care un compus organic funcţionează atât ca donator cât şi ca acceptor de electroni.

Energia eliberată în cursul fermentaţiei nu se pierde toată sub formă de căldură, ci o parte este conservată sub formă de ATP (2 moli). Fermentaţia constituie modalitatea principală de procurare a energiei la levuri şi bacterii. Glucidele reprezintă principalul substrat folosit de microorganisme în acest proces.

În prezent, conceptul clasic de fermentaţie este înţeles ca un proces legat de utilizarea industrială a microorganismelor şi a enzimelor lor, în scopul obţinerii unui compus organic specific substratului ca acizi organici, enzime, vitamine, antibiotice etc. De asemenea, conceptul de fermentaţie nu mai este acceptat de majoritatea specialiştilor, el fiind înlocuit cu cel de **biosinteză**.

Aceste schimbări de concepţii au condus şi la schimbări în ceea ce priveşte conceptul actual de fermentaţii, ceea ce a făcut să se distingă la ora actuală două tipuri de fermentaţii, care reflectă mai fidel procesul microbian: anaerobe şi aerobe.

- **Fermentaţiile anaerobe** sunt fermentaţiile în sens pasteurian, în care rolul de acceptor de electroni îl joacă un metabolit intermediar, iar agenţii acestor tipuri de fermentaţii sunt microorganismele anaerobe sau facultativ anaerobe (ex. fermentaţia alcoolică, lactică, propionică, butirică) – Tabel X.
- **Fermentaţiile aerobe (oxidative)** sunt procese în care oxigenul joacă rol de acceptor de electroni (ex. fermentaţia acetică, gluconică, citrică, oxalică) – Tabel X.

6.4. BILANŢUL ENERGETIC AL PROCESELOR DE OXIDOREDUCERE BIOLOGICĂ

Cele trei procese de oxidoreducere biologică (respiraţiile aerobă, anaerobă şi fermentaţiile) prezintă o deosebită importanţă pentru viaţa oricărei celule, deci şi a microorganismelor, deoarece conduc la eliberarea energiei utilizată la sinteza ATP (Tabel XI).

BCU IAŞI CENTRALA UNIVERSITARĂ LIBRARY

Tabel X – Tipuri de fermentații microbiene

Fermentații anaerobe - produși de fermentație	Microorganisme selecționate	Fermentații aerobe - produși de fermentație	Microorganisme selecționate
Alcoolică- etanol și CO_2	*Saccharomyces* sp.	Acetică- acid acetic, H_2O	*Acetobacter* sp.
Lactică- acid lactic, diacetil	*Lactobacillus* sp. *Streptococcus* sp.	Gluconică- acid gluconic	*Gluconobacter* sp. *Aspergillus niger*
Propionică- acid propionic, acid acetic, CO_2	*Propionibacterium* sp.	Citrică- acid citric	*Aspergillus niger*
Butirică- acid butiric, CO_2, H_2	*Clostridium* sp.	Oxalică- acid oxalic	Micromicete

Tabel XI – Comparații între respirația aerobă, respirația anaerobă și fermentații (după Tortora, Funke și Case, 2002)

Procese producătoare de energie	Condiții de dezvoltare	Acceptorul final de hidrogen (electroni)	Mol ATP/mol glucoză
Respirația aerobă	Aerobe	Oxigen molecular (O_2)	36 la procariote 38 la eucariote
Respirația anaerobă	Anaerobe	Substrat anorganic (NO_3^-, SO_4^{2-}, CO_3^{2-}), nu oxigen	Variabil (2-38)
Fermentații	Aerobe sau anaerobe	o moleculă organică	2

Așa cum reiese din tabelul de mai sus, în urma respirației aerobe, prin catabolizarea unei molecule de glucoză, rezultă 36 moli ATP la procariote și 38 moli la eucariote. În respirația anaerobă, cantitatea de ATP rezultată nu se știe cu exactitate, ea putând fi mai mare decât 38 moli ATP sau mai mică de 2 moli ATP. În urma fermentațiilor, prin catabolizarea unei molecule de glucoză rezultă 2 moli ATP.

De subliniat este faptul că, energia rezultată în urma reacțiilor catabolice este stocată în molecule de ATP, ce prezintă o importanță deosebită:

1. energia stocată se eliberează prin defosforilare (ATP → ADP + E ↑), ori de câte ori celula are nevoie pentru desfăşurarea reacţiilor anabolice sau pentru unele funcţii celulare;
2. eliberarea energiei se realizează fracţionat, rapid şi uşor.

6.5. CATABOLISMUL LIPIDIC ŞI PROTEIC

Energia necesară bacteriilor poate rezulta şi din oxidarea acizilor graşi şi glicerolului precum şi a aminoacizilor, tot prin ciclul ATC.

Microorganismele au capacitatea de a hidroliza lipidele în acizi graşi şi glicerol cu ajutorul enzimelor numite ***lipaze***. Fiecare produs rezultat urmează o cale proprie de catabolism, implicându-se în final în ciclul ATC.

Proteinele extracelulare sunt degradate de microorganismele heterotrofe cu ajutorul exoenzimelor numite ***proteaze***, în molecule de peptide, urmate de ***peptidaze***, care fragmentează peptidele în aminoacizi. Aminoacizii pot pătrunde în celulă prin structurile membranare, unde pot continua procesele metabolice. Surplusul de aminoacizi neintegraţi în procesul de anabolism (sinteza proteinelor intracelulare) va fi catabolizat pe două căi: dezaminare şi decarboxilare.

6.6. ANABOLISMUL

Anabolismul bacterian corespunde reacţiilor de biosinteză prin care se realizează sinteza compuşilor celulari cu rol plastic şi funcţional (acizi nucleici, protide, lipide, polioze). Biosinteza acestor compuşi necesită din partea celulei un consum de energie.

Biosinteza polizaharidelor

Pentru sinteza glucozei sunt folosiţi compuşi intermediari, care rezultă din glicoliză şi ciclul ATC după care urmează asamblarea în compuşi polizaharidici.

Biosinteza lipidelor

Bacteriile sintetizează lipidele pe mai multe căi, prin unirea moleculelor de acizi graşi şi glicerol. Glicerolul provine dintr-un compus intermediar (ex. dihidroxiacetonfosfat) rezultat în cursul glicolizei; acizii graşi sunt sintetizaţi prin adăugarea succesivă de două fragmente de acetil-coenzima A.

Biosinteza aminoacizilor şi a proteinelor

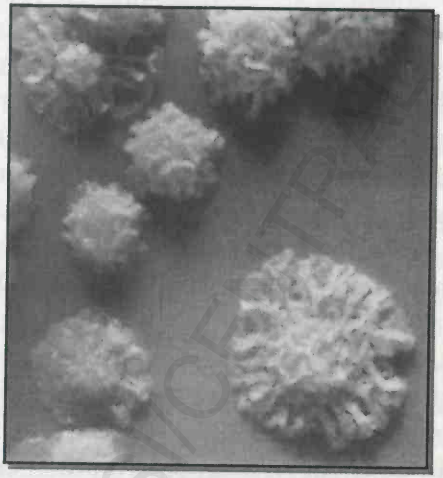
Marea majoritate a aminoacizilor (necesari biosintezei proteinelor) sunt sintetizaţi de celula bacteriană prin căi biosintetice, care pleacă de la un număr relativ mic de precursori (rezultaţi în special din ciclul ATC), iar clasificarea lor se face în funcţie de mecanismul biosintezei.

Procesul de biosinteză al proteinelor se desfăşoară în două etape: prima se realizează prin transcrierea informaţiei genetice de la ADN la ARN, a doua are loc prin traducerea informaţiei de la ARNm la ribozomi.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

7

CREŞTEREA ŞI MULTIPLICAREA BACTERIILOR



Colonii de *Mycobacterium smegmatis*

7.1. Creşterea bacteriilor
7.2. Multiplicarea bacteriilor
7.3. Estimarea creşterii bacteriene
7.4. Dinamica multiplicării bacteriilor în culturi
7.5. Culturi şi colonii bacteriene
7.6. Influenţa factorilor de mediu asupra creşterii bacteriilor

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

7.1. CREŞTEREA BACTERIILOR

Creşterea este definită în sens biologic, ca procesul de mărire coordonată a tuturor constituenţilor unui organism, ca rezultat al producerii sau adăugării de substanţă nouă. Acest proces se realizează prin sinteze specifice şi echilibrate, pornind de la substanţele nutritive din mediu, a unor compuşi de bază („blocuri de construcţie"), care sunt apoi asamblaţi pentru a forma copii fidele ale constituenţilor celulari. Creşterea bacteriană implică peste 2000 de reacţii chimice, cu o mare varietate de tipuri. O parte din aceste reacţii sunt implicate în transformările energiei, în timp ce altele intervin în biosinteza moleculelor mici, ce servesc la formarea macromoleculelor.

Procesul de creştere depinde, în evoluţia sa, de natura şi concentraţia substanţelor nutritive din mediu şi de aprovizionarea continuă a celulei cu energia necesară reacţiilor endotermice de sinteză.

La toate speciile unicelulare creşterea are ca rezultat multiplicarea acestora, respectiv creşterea numărului de indivizi. La organismele pluricelulare creşterea are ca efect sporirea volumului, respectiv a taliei individuale.

Creşterea bacteriilor se realizează, după caz, prin depunerea uni-, bi- sau tridimensională de substanţă nou sintetizată, ceea ce determină mărirea celulei în sensul uneia din dimensiunile ei (creştere polară sau bipolară) sau în sensul celor trei dimensiuni (lungime, lăţime şi grosime).

Creşterea nu trebuie confundată cu mărirea volumului celulei bacteriene prin acumularea de substanţe de rezervă sau prin înglobarea unei cantităţi mari de lichide (apă). Celulele bacteriene care cresc ca masă şi volum nu îşi măresc proporţional toate dimensiunile. De exemplu, la bacteriile cilindrice, în timpul creşterii echilibrate, diametrul cilindrului rămâne fix, în aşa fel încât are loc numai creşterea în lungime a celulei, în timp ce la bacteriile sferice, creşterea se realizează prin depunerea de substanţă nouă pe cele trei dimensiuni.

Creşterea nu continuă la infinit, deoarece se ajunge la un moment critic când este întreruptă, fiind urmată de diviziunea celulei. Mecanismul întreruperii procesului de creştere este puţin cunoscut. Un rol important i se atribuie modificării raportului dintre suprafaţa şi volumul celulei. În condiţii normale există un raport echilibrat între suprafaţă (aria celulară prin care se realizează schimburile cu mediul) şi volum (masa celulară care consumă nutrienţi şi produce cataboliţi). În timpul creşterii celulei bacteriene acest raport se modifică, datorită faptului că suprafaţa creşte la pătrat, iar volumul creşte la cub, ceea ce are drept consecinţă o diminuare a suprafeţei celulare faţă de volum.

Când disproporţia dintre suprafaţă şi volum atinge un anumit nivel critic, raportul normal se restabileşte prin diviziunea celulei. Diviziunea celulară apare deci ca o formă necesară de reglare automată a activităţii celulei bacteriene.

Creşterea unei populaţii de microorganisme este rezultatul creşterii şi diviziunii organismelor individuale care formează populaţia respectivă. Într-un mediu de cultură corespunzător, bacteriile perfect adaptate au o creştere echilibrată. Culturile aflate în stare de creştere echilibrată îşi menţin o compoziţie chimică constantă deoarece creşterea biomasei este însoţită de o creştere comparabilă a celorlalte componente ale populaţiei (proteine, ARN, ADN, apă intracelulară).

Creşterea şi multiplicarea bacteriilor reprezintă rezultatul metabolismului de biosinteză. Înţelegerea evoluţiei acestor procese este importantă atât din punct de vedere teoretic (cunoaşterea dinamicii şi a particularităţilor creşterii, mecanismului diviziunii, ratei creşterii şi a factorilor care o influenţează etc.), cât şi pentru activităţile de ordin practic, legate de utilizările biotehnologice ale microorganismelor. Obţinerea de biomasă bacteriană, de produşi de fermentaţie sau de produşi secundari de metabolism, cu randament maxim se realizează în condiţii de cultură deosebite şi de aici, necesitatea de a dirija creşterea şi multiplicarea pe căi diferite, în funcţie de necesităţi.

7.2. MULTIPLICAREA BACTERIILOR

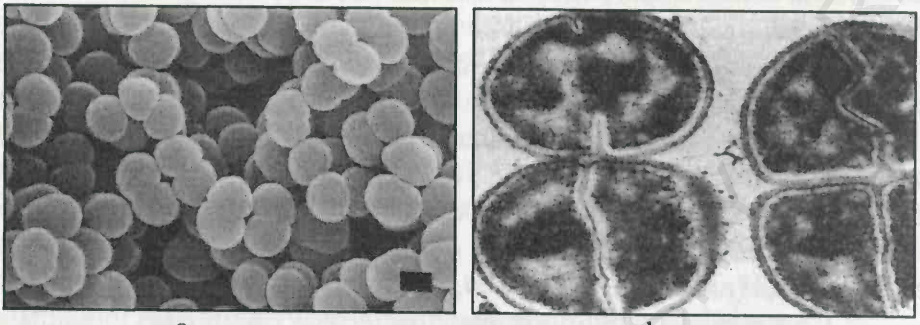
Multiplicarea reprezintă creşterea numărului de celule bacteriene, ce se poate realiza prin mai multe mecanisme. Astfel, la marea majoritate a bacteriilor, multiplicarea se face prin ***diviziune directă*** (***simplă***, ***binară*** sau ***sciziparitate***), în timp ce la un număr mic de specii multiplicarea se poate realiza prin ***înmugurire***, ***fragmentare*** sau prin formarea unui ***tip special de spori*** (de propagare sau dispersare).

7.2.1. Multiplicarea prin diviziune directă

Diviziunea directă numită şi ***diviziune simplă***, ***binară*** sau ***sciziparitate*** reprezintă forma cea mai răspândită de multiplicare a bacteriilor, constând în scindarea celulei mamă în două celule fiice, cel mai adesea identice, egale ca mărime (*diviziune izomorfă*) sau uneori inegale (*diviziune heteromorfă*).

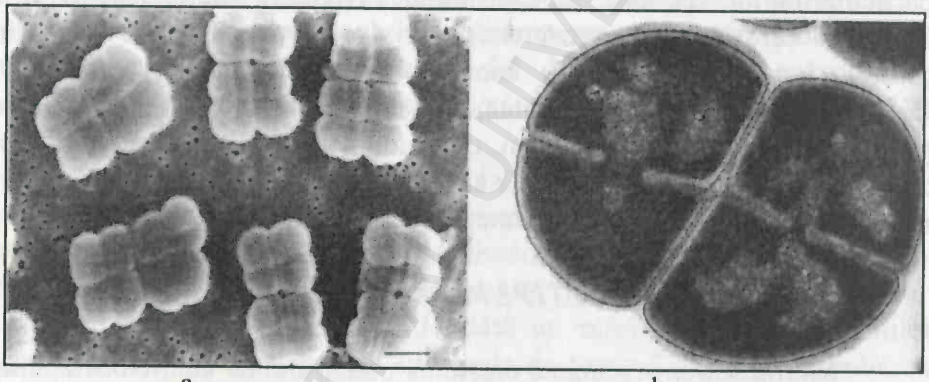
La coci diviziunea se realizează după unul, două, trei sau mai multe planuri de diviziune, ceea ce face posibilă gruparea celulelor fiice

în câteva moduri caracteristice: diplococi (Fig. 75), streptococi, tetrade (Fig. 76), sarcine, stafilococi.



a b

Fig. 75 – *Halococcus morrhuae*: a - aspect morfologic; b - formarea septurilor de diviziune (după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 3, 1989)



a b

Fig. 76 – *Deinococcus radiodurans*: a - aspect morfologic; b - formarea septurilor de diviziune (după Alcamo, 2003)

Bacilii şi spirilii se divid transversal, după un plan perpendicular pe axul longitudinal al celulei (Fig. 77) şi numai excepţional, la unii spirili diviziunea are loc după un plan paralel cu acest ax.

Diviziunea bacteriilor include separarea în mod aproximativ egal a tuturor constituenţilor celulari, inclusiv a materialului nuclear. Mai mult chiar, replicarea ADN-ului precede diviziunea propriu-zisă şi este indispensabilă pentru ca aceasta să aibă loc. Replicarea cromozomului şi diviziunea celulei nu sunt întotdeauna sincronizate ci există uneori un decalaj destul de mare, ceea ce determină apariţia celulelor bacteriene multinucleate.

Diviziunea a fost studiată la un număr relativ limitat de bacterii Gram-pozitive şi Gram-negative, realizându-se predominant prin apariţia

septului transversal. Procesul de diviziune implică trei etape succesive (Fig. 78).

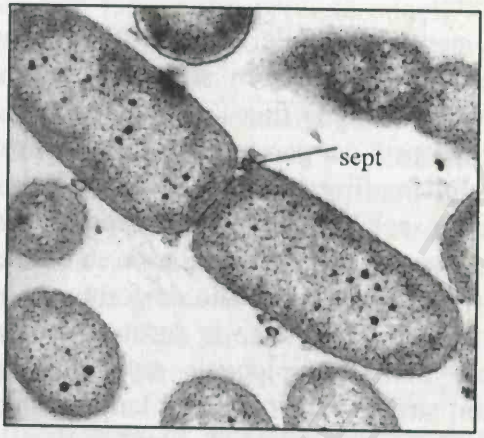


Fig. 77 – *Pseudomonas aeruginosa*: formarea septului transversal de diviziune (după Lim, 1998)

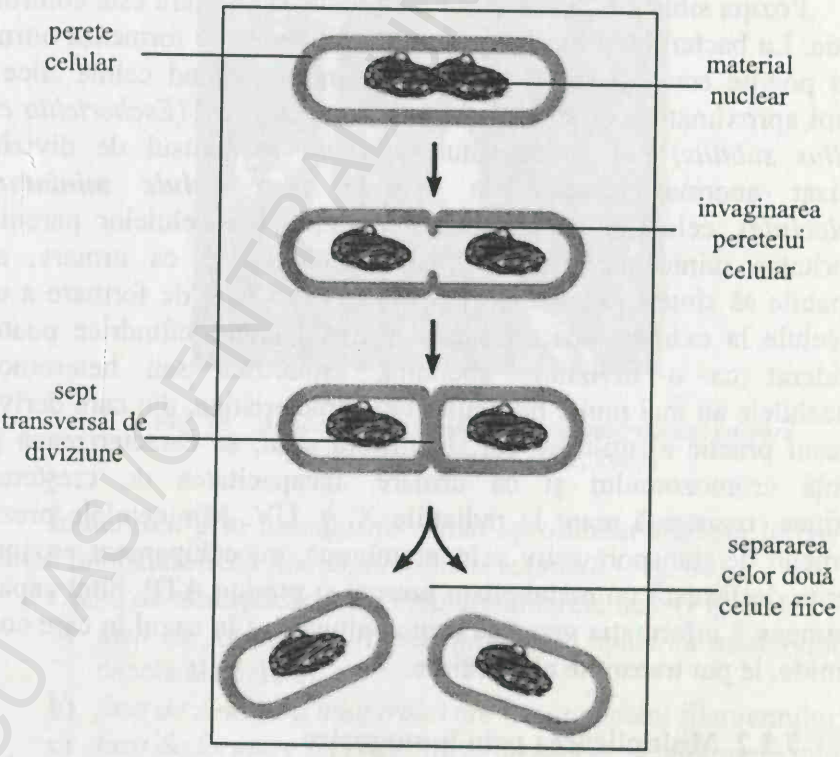


Fig. 78– Reprezentarea schematică a multiplicării prin diviziune simplă (sciziparitate)

BCU IAŞI/CENTRALĂ/LIBRARY

a) apariţia unui sept transversal format din membrana citoplasmatică, ce împarte spaţiul citoplasmatic în două compartimente;
b) invaginarea peretelui celular la nivelul septului transversal şi pătrunderea lui centripetă, cu separarea lui în două foiţe; în această etapă celulele fiice astfel formate vor avea toţi constituenţii proprii, dar peretele celular rămâne comun;
c) separarea celulelor fiice prin scindarea peretelui celular comun; în unele cazuri, celulele fiice rămân legate între ele prin septul transversal, deoarece peretele celular nu se divide.

Diferenţele care apar în procesele de formare şi clivaj a septului creează tipuri caracteristice, reflectate în forma şi modul de aranjare al celulelor bacteriene. Astfel, diplococii sunt formaţi prin clivajul incomplet al septului; streptococii formează lanţuri lungi prin sinteza de septuri succesive orientate paralel, în timp ce stafilococii formează grămezi tridimensionale, prin iniţierea fiecărui sept nou, perpendicular pe precedentul.

Poziţia situsului la care are loc diviziunea celulară este controlată genetic. La bacteriile cilindrice, septul de diviziune se formează normal, într-o poziţie ecuatorială, în urma diviziunii rezultând celule fiice cu mărimi aproximativ egale (izomorfe). La unele specii (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*) pot apărea mutante, care au situsul de diviziune localizat anormal, ducând la apariţia unor ***celule miniaturale*** (***minicelule***), celule mici, sferice, la extremitatea celulelor parentale. Majoritatea minicelulelor sunt lipsite de ADN şi ca urmare, sunt incapabile să sintetizeze polimerii specifici. Procesul de formare a unei minicelule la extremitatea terminală a unei bacterii cilindrice poate fi considerat ca o diviziune aberantă, asimetrică sau heteromorfă. Minicelulele au mai multe particularităţi caracteristice, din care derivă şi interesul practic al utilizării lor. În primul rând, se caracterizează prin absenţa cromozomului şi ca urmare, incapacitatea de creştere şi diviziune, rezistenţă mare la radiaţiile X, γ, UV. Minicelulele prezintă fenomene de transport activ prin membrană, au echipament enzimatic propriu, desfăşoară un metabolism normal şi produc ATP. Sunt capabile să primească informaţia genetică prin conjugare şi în cazul în care conţin plasmide, le pot transmite altor celule.

7.2.2. Multiplicarea prin înmugurire

Înmugurirea reprezintă o modalitate particulară de reproducere, constând în formarea pe suprafaţa celulei a unui mugure terminal sau

lateral, care va deveni o nouă celulă, ce rămâne legată de celula mamă printr-un tub de legătură, la nivelul căruia apare septul transversal. Celulele rezultate prin înmugurire prezintă uneori tendinţa de a rămâne ataşate de celula mamă, formând colonii cu celule unite prin ramificaţiile lor tubulare.

Formarea unor structuri asemănătoare mugurilor se întâlneşte la numeroase bacterii, dar puţine specii se înmulţesc cu adevărat prin înmugurire. Acestea din urmă prezintă o mare diversitate taxonomică. Majoritatea lor aparţin genurilor de bacterii prostecate (*Rhodomicrobium, Rhodopseudomonas, Hyphomicrobium, Prosthecobacter*) - Fig. 79, dar pot face parte şi din alte grupe de bacterii (*Methallogenium, Pasteuria, Nitrobacter winogradski*). Sub raport nutritiv, aceste bacterii pot fi foto- sau chemotrofe, auto- sau heterotrofe.

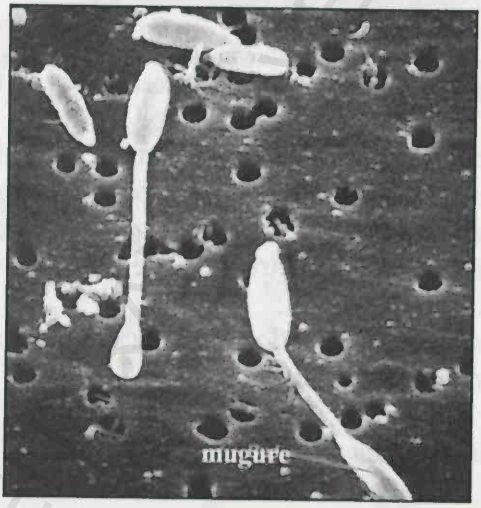


Fig. 79 – Aspectul mugurilor la *Hyphomicrobium vulgare*
(după Tortora, Funke, Case, 2002)

Înmulţirea prin înmugurire a fost aprofundat studiată la bacteria acvatică fotoheterotrofă *Rhodomicrobium vannielii* (Fig. 80).

Ciclul de multiplicare cuprinde următoarele faze (Fig. 81):

a) *faza de formare a filamentului* care apare la unul (ambele) capete ale celulei;
b) *faza de sinteză a mugurelui* are loc la capătul filamentului;
c) *faza de formare a celulei fiice*, urmată de separarea fiziologică a acesteia de celula mamă; separarea se realizează prin diviziune binară (la nivelul joncţiunii filamentului cu celula

mamă) sau prin formarea unui „dop" în filament (la mică distanţă de celula fiică), rezultând în acest din urmă caz lanţuri de celule.

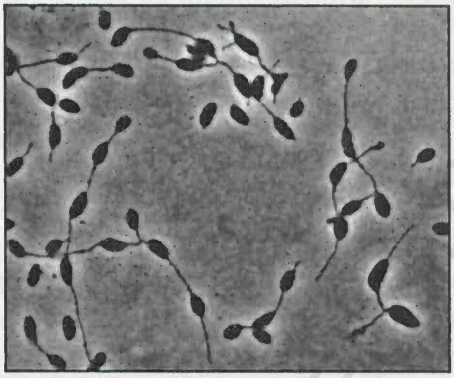


Fig. 80 – Aspectul mugurilor la *Rhodomicrobium vannielii*
(după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 3, 1989)

Primele trei faze sunt grupate sub denumirea de *fază de reproducere*. Urmează *faza de maturare* a celulelor fiice desprinse, care sunt înconjurate de cili peritrichi. Această fază cuprinde trei perioade:

- *perioada mobilă* – în care celulele se deplasează în mediu cu ajutorul cililor peritrichi;
- *perioada de pierdere a flagelilor* – când celulele devin imobile;
- *perioada de maturare terminală.*

7.2.3. Multiplicarea prin fragmentare

Multiplicarea prin fragmentare este o formă specială de înmulţire vegetativă observată la majoritatea actinomicetelor (reprezentanţii genurilor: *Actinomyces*, *Frankia*, *Nocardia*, *Pseudonocardia*). S-a constatat că în prima treime a ciclului are loc o creştere activă, fără modificarea numărului de celule viabile. Ulterior, datorită fragmentării multiple, masa celulară rămâne constantă, în timp ce numărul celulelor viabile creşte foarte mult. Ciclul de creştere include o perioadă de dezvoltare hifală, în care alungirea se realizează prin adăugarea de material nou numai la extremitatea hifei şi la locul de origine al ramificaţiilor. Fragmentarea apare iniţial în zonele mai vechi ale hifelor şi determină apariţia de fragmente scurte, egale, ale căror extremităţi devin situsuri de creştere (Fig. 82).

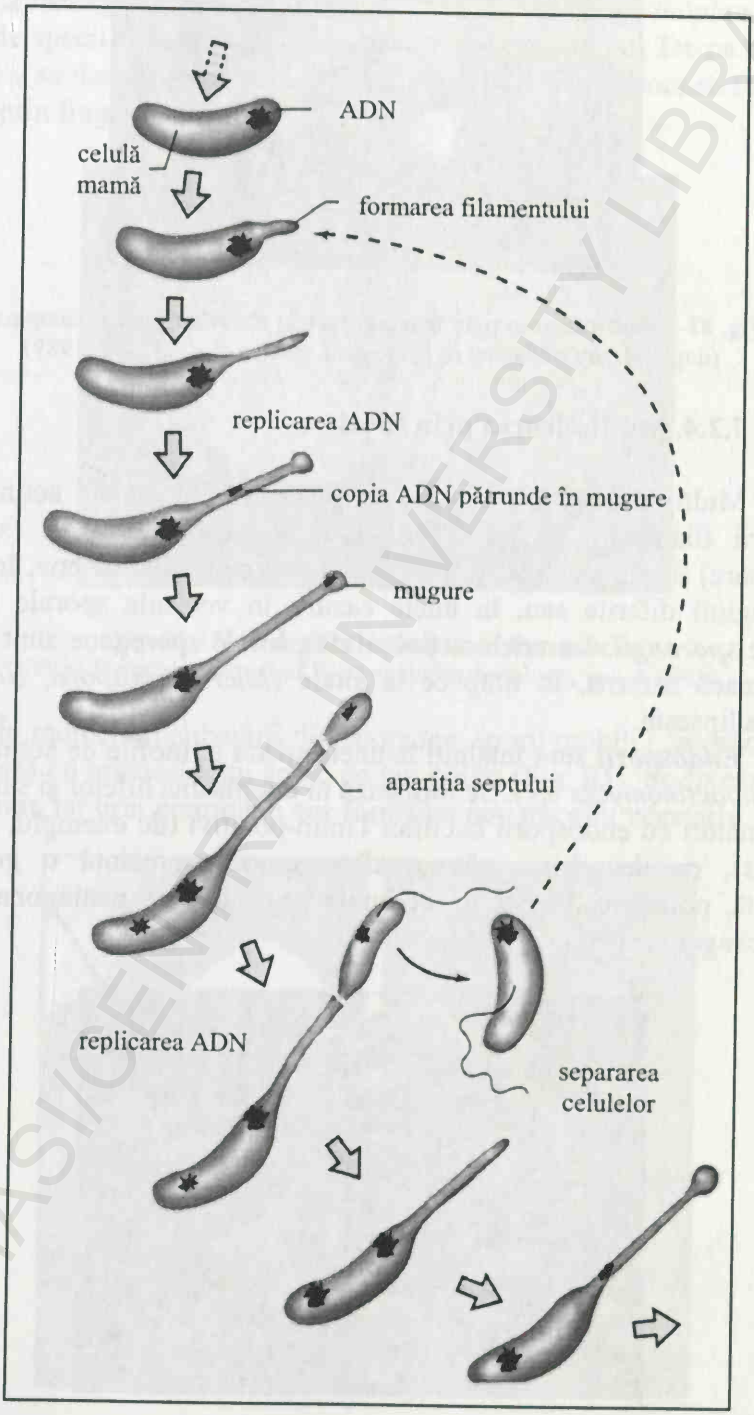


Fig. 81 – Ciclul de multiplicare la *Rhodomicrobium vannielii*

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 82 – Multiplicarea prin fragmentare la *Pseudonocardia compacta* (după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 4, 1989)

7.2.4. Multiplicarea prin spori

Multiplicarea prin spori se întâlneşte la unele actinomicete (bacterii filamentoase), care formează de regulă ***exospori*** (spori de dispersare) de tip asexuat, dispuşi de obicei pe hifele aeriene, în lanţuri de lungimi diferite sau, în unele cazuri, în vezicule sporale speciale numite ***sporangii***. La unele actinomicete, hifele sporogene sunt învelite de o teacă externă, în timp ce la altele (*Micromonospora*, *Nocardia*) aceasta lipseşte.

Endosporii sunt întâlniţi la unele specii termofile de actinomicete (*Thermoactinomyces* sp.). Se formează în citoplasma hifelor şi sunt foarte asemănători cu endosporii bacililor Gram-pozitivi (de exemplu, *Bacillus subtilis*), cu deosebirea că suprafaţa sporilor prezintă o geometrie regulată, poliedrică, conferită de suma celor 12 feţe pentagonale şi 12 feţe hexagonale (Fig. 83).

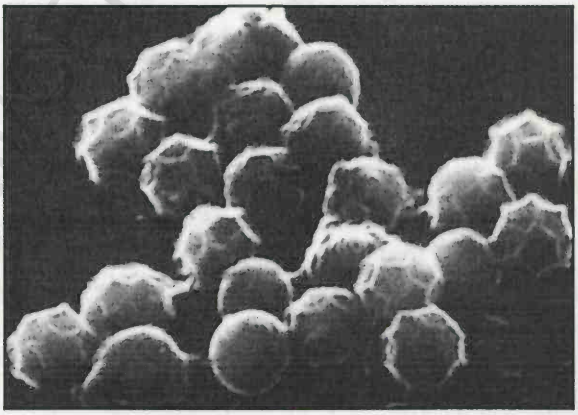


Fig. 83 – Spori la *Thermoactinomyces sacchari* (după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 4, 1989)

Sporangiosporii au fost evidenţiaţi la genul *Actinoplanes*, care cuprinde specii acvatice ce trăiesc pe frunzele submerse. De pe miceliul vegetativ se dezvoltă sporangii (Fig. 84), în interiorul cărora se formează sporii, prin fragmentarea hifelor fertile.

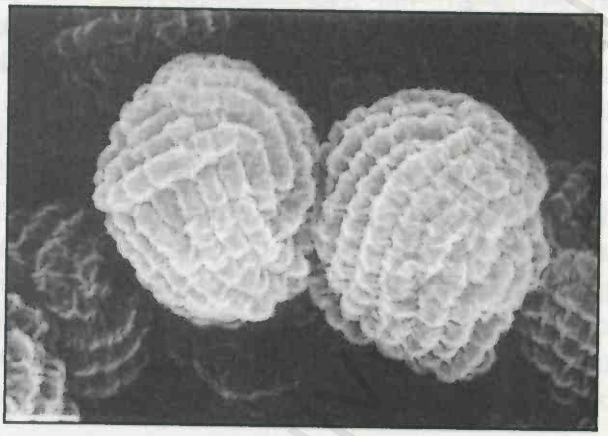


Fig. 84 – Sporangii la *Actinoplanes ferrugineus*
(după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 4, 1989)

În momentul eliberării din sporange, sporii mobili („zoospori") se deplasează cu ajutorul unui smoc de cili polari (Fig. 85). Se fixează apoi de substrat, iar prin germinare vor forma un nou miceliu vegetativ.

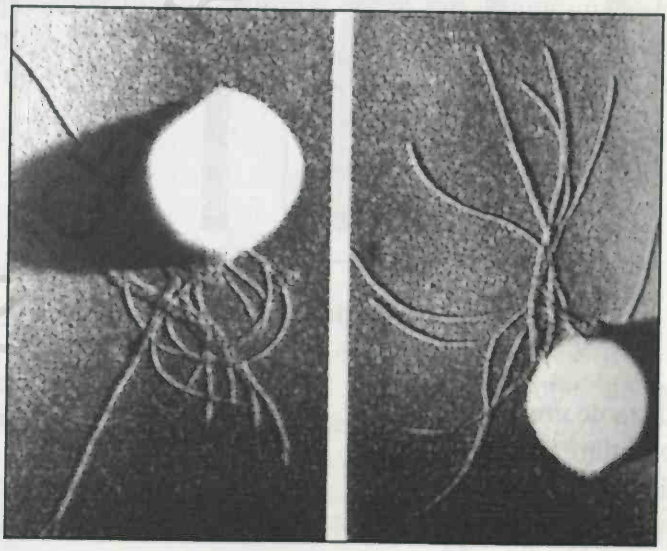


Fig. 85 – Spori la *Actinoplanes ferrugineus*
(după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 4, 1989)

Sporii hifali (***arthrosporii***) se formează prin fragmentarea hifelor sporogene.

Sporogeneza la *Streptomyces* sp. (Fig. 86) are loc la nivelul celulelor apicale ale celulelor tinere, care iniţial sunt lipsite de septuri transversale şi mai lungi decât cele neapicale. Ele sunt iniţial divizate prin septuri transversale în segmente lungi şi apoi compartimentate în unităţi mai scurte, care formează fiecare un spor. În timp ce hifa sporogenă se răsuceşte, materialul nuclear va fi repartizat în viitoarele compartimente sporale. Septurile transversale se formează la intervale regulate, ca un inel dublu ce creşte spre interiorul hifei. Septarea este însoţită de clivarea celor două straturi ale septului, pentru a forma sporii. După maturare, sporii se detaşează uşor de hifele sporogene şi sunt deplasaţi cu ajutorul curenţilor de aer, deoarece sunt lipsiţi de mobilitate.

Forma şi structura sporilor hifali, corelate cu modul de organizare al hifelor sporogene ale miceliului aerian, reprezintă importante criterii taxonomice pentru speciile ce aparţin genului *Streptomyces*.

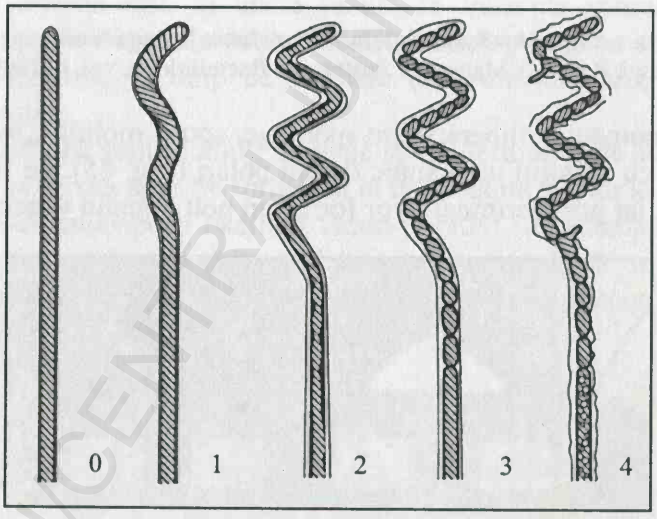


Fig. 86 – Formarea sporilor hifali la *Streptomyces* sp.
(după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

0 - faza de creştere;
1- ondularea extremităţii;
2- diviziunea extremităţii;
3 - îngroşarea pereţilor celulari şi constricţia sporilor;
4 - maturarea sporilor.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

7.3. ESTIMAREA CREŞTERII BACTERIENE

Aspectele cantitative ale creşterii bacteriene, de mare importanţă teoretică (studiul fiziologiei microbiene) şi practică (aplicaţiile biotehnologice ale microorganismelor), pot fi studiate pe culturi sau populaţii bacteriene dezvoltate în medii de cultură lichide. În acest scop, au fost definiţi o serie de **parametri** care caracterizează acest proces şi stabilite mai multe formule de exprimare matematică şi grafică.

➢ **Ciclul de creştere**

Include perioada de timp cuprinsă între apariţia unei celule rezultată prin diviziune până când ea atinge, prin creştere şi maturitate, o nouă fază de diviziune. În acest interval, celula creşte în dimensiuni şi atinge masa critică care impune sciziparitatea.

➢ **Numărul bacteriilor dintr-o populaţie (N)**

Se exprimă (în cazul populaţiilor cultivate în medii lichide), raportat la unitatea de volum de mediu (N/ml).

➢ **Durata unei generaţii (g) sau timpul unei generaţii (timpul de dublare)**

Reprezintă timpul (exprimat în ore sau minute) necesar pentru ca o celulă sau o populaţie celulară să se dubleze. Poate fi exprimată prin intervalul de timp dintre două diviziuni sau prin numărul de generaţii/ oră:

$$g = \frac{t}{n}$$

unde: t – intervalul de timp;
n – numărul de generaţii.

Acest timp variază foarte mult, în funcţie de specie. La majoritatea bacteriilor, durata unei generaţii este cuprinsă între 1 – 3 ore, în timp ce la altele, aceasta poate varia de la câteva ore la câteva zile (Tabel XII). Dacă diviziunea continuă nelimitat se poate produce o masă enormă de celule. Dacă dublarea are loc o dată la 20 minute (ex., *Escherichia coli*) în condiţii favorabile, în decursul a 20 de generaţii (7 ore) se poate ajunge la 1 milion de celule, în 30 de generaţii (10 ore) la 1

bilion de celule, iar în 24 de ore la o cifră formată din 1 urmat de 21 zerouri. Întrucât reprezentarea grafică a creşterii numerice în valori aritmetice este foarte dificilă, se utilizează curent în acest scop exprimarea logaritmică.

Tabel XII – Durata generaţiei la unele specii bacteriene (după Lim, 1998)

Specia bacteriană	Durata unei generaţii (min)
Bacillus subtilis	35
Clostridium botulinum	35
Escherichia coli	20
Lactobacillus acidophilus	66
Mycobacterium tuberculosis	792
Pseudomonas aeruginosa	31
Salmonella typhimurium	24
Shigella dysenteriae	23
Staphylococcus aureus	32
Streptococcus lactis	48
Streptococcus pneumoniae	30
Xanthomonas campestris	74

➢ **Numărul de generaţii (n)**

În timpul fazei de creştere exponenţială, numărul celulelor creşte astfel: o populaţie bacteriană, având la timpul t_0 (în inocul) numărul de celule N_0, devine după o diviziune $2 \cdot N_0$, după două diviziuni $2^2 \cdot N_0$, după trei diviziuni $2^3 \cdot N_0$, iar la timpul t, după n diviziuni (generaţii) $2^n \cdot N_0$. Prin urmare, numărul de bacterii se dublează la fiecare generaţie:

$$N_0 \rightarrow 2 \cdot N_0 \rightarrow 4 \cdot N_0 \rightarrow 8 \cdot N_0 \rightarrow \text{..... etc.}$$

Se poate utiliza metoda adunării: 2 + 2 = 4 + 4 = 8 + 8 = 16 + 16 = 32 .....etc., sau cea a multiplicării (ex. $2^4 = 2 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 2$) – Fig. 87.

Pentru calcularea numărului de bacterii după **n generaţii** se utilizează formula:

$$N_n = 2^n \cdot N_0$$

în care:
N_n = numărul de bacterii înregistrat după n generaţii, la timpul t,
N_0 = numărul iniţial de bacterii, la timpul t_0,
n = numărul de generaţii între timpul t_0 şi t.

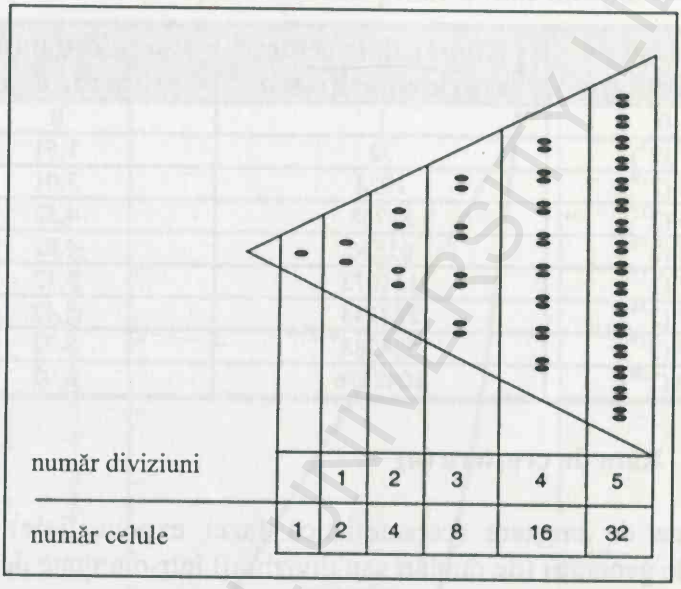


Fig. 87 – Reprezentarea schematică a dublării numărului de celule la fiecare generaţie

Valoarea lui n poate fi stabilită prin exprimarea logaritmică a ecuaţiei:

$$n = \log_2 \frac{N_n}{N_0}$$

$$n = \log_2 N_n - \log_2 N_0$$

Dacă exprimăm în $\log_{10}$ şi înlocuim $\log_{10}2$ cu valoarea sa (0,301), relaţia devine:

$$n = \frac{\log_{10} N_n - \log_{10} N_0}{0,301}$$

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Numărul de generaţii poate fi reprezentat pe scară aritmetică sau logaritmică (Tabel XIII).

Tabel XIII – Exprimarea aritmetică şi logaritmică a numărului de celule bacteriene (funcţie de numărul de generaţii) – după Tortora, Funke, Case, 2002

Numărul de generaţii (n)	Numărul de celule exprimat aritmetic	Log_{10} din numărul aritmetic de celule
0	1	0
5 (2^5)	32	1,51
10 (2^{10})	1024	3,01
15 (2^{15})	32768	4,52
16 (2^{16})	65536	4,82
17 (2^{17})	131072	5,12
18 (2^{18})	262144	5,42
19 (2^{19})	524288	5,72
20 (2^{20})	1048576	6,02

➢ **Rata de creştere (μ)**

Rata de creştere (caracteristică fazei exponenţiale) reprezintă numărul de generaţii (de dublări sau diviziuni) într-o unitate de timp (oră) şi este dată de formula:

$$\mu = \frac{n}{t}$$

Această formulă, care reprezintă ecuaţia fundamentală a creşterii bacteriilor sub formă exponenţială, devine în forma sa logaritmică:

$$\mu = \frac{\log_2 N_n - \log_2 N_0}{t}$$

Datele pot fi exprimate şi în $\log_{10}$, în care caz rata de creştere este dată de formula:

$$\mu = \frac{\log_{10} N_n - \log_{10} N_0}{0{,}301 \cdot t}$$

Întrucât reprezentarea grafică a creşterii numerice în valori aritmetice este foarte dificilă, se utilizează curent, în acest scop,

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

exprimarea logaritmică. Reprezentarea semilogaritmică a creşterii se poate realiza, înregistrând pe abscisă timpul şi pe ordonată rezultatele, respectiv numărul celulelor, în termeni de $\log_2$ sau $\log_{10}$ (Fig. 88). Creşterea populaţiei, consecutivă diviziunii bacteriilor cu ritm constant (la acelaşi interval de timp) se exprimă printr-o linie dreaptă.

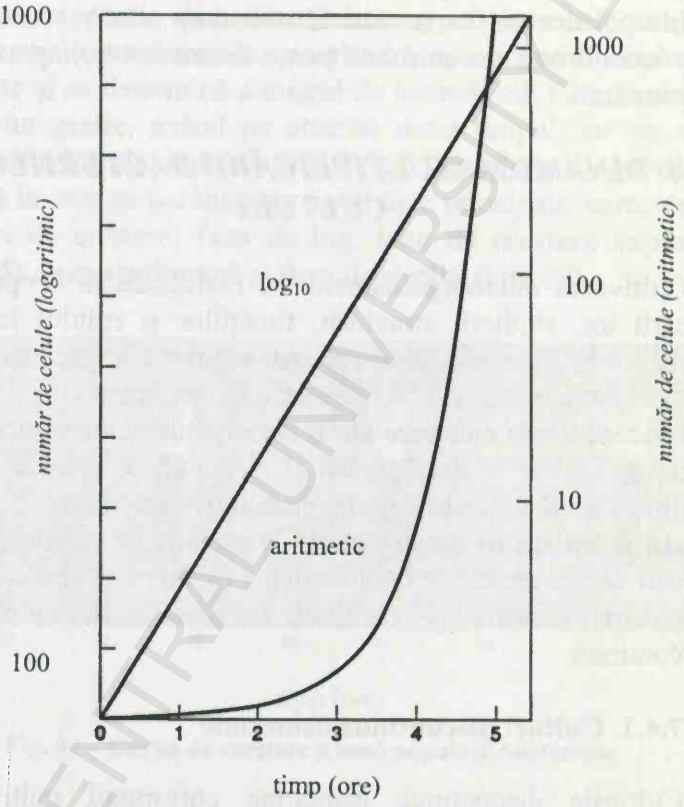


Fig. 88 – Curba creşterii exponenţiale exprimată logaritmic şi aritmetic

Întrucât rata de creştere exprimă activitatea biosintetică a celulei bacteriene, se poate considera că ea corespunde vitezei de creştere. Rata de creştere sporeşte progresiv după însămânţare şi rămâne constantă pe toată durata multiplicării active. De exemplu, la *Escherichia coli* la care g = 20 min, $\mu = 3$, iar pentru *Mycobacterium tuberculosis* la care g = 792 min, $\mu = 0{,}075$.

➢ Randamentul creşterii

Creşterea totală a bacteriilor reprezintă diferenţa dintre numărul celulelor aflate în mediu, când populaţia intră în faza finală de creştere şi

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

numărul de celule inițale din inocul.

Masa de material celular produs/unitate de masă nutrient consumat este o constantă numită *randament de creştere.*

Cunoscând rata unei generații şi condițiile necesare creşterii microbiene, se poate urmări creşterea microorganismelor în diferite situații, determinându-se şi modalitățile de control ale acestei creşteri. Populațiile pot deveni foarte mari într-un timp relativ scurt, astfel încât creşterea microbiană necontrolată poate determina boli grave şi alterări ale alimentelor.

7.4. DINAMICA MULTIPLICĂRII BACTERIILOR ÎN CULTURI

Cultivarea microorganismelor se realizează în scopul izolării şi identificării lor, studierii structurii, funcțiilor şi rolului lor în natură, menținerii lor în stare viabilă în colecții, obținerii de produşi rezultați din biomasa celulară, biosinteze, fermentații, bioconversii etc.

Procedeele de cultivare ale microorganismelor sunt mult studiate din punct de vedere al desfăşurării şi al factorilor care le influențează, fiind obținute două tipuri principale de culturi bacteriene:

- **culturi discontinue** (rezultate în mediile de cultură nereînnoite)- care se pot realiza în două variante (***asincrone*** şi ***sincrone***);
- **culturi continue** – rezultate în mediile de cultură reînnoite continuu.

7.4.1. Culturi discontinue asincrone

Culturile discontinue asincrone corespund cultivării micro-organismelor în sisteme închise (flacoane, eprubete) într-un volum fix de mediu nutritiv de la începutul până la sfârşitul experimentului. Pe lângă volumul de mediu fix (nereînnoit), cultivarea discontinuă asincronă prezintă anumite particularități (Herlea, 1998):

- compoziția chimică a mediului se modifică în cursul studiului, sub raportul conținutului în nutrienți, a valorii pH-ului, precum şi a produşilor rezultați din metabolism (acumulare de cataboliți, dintre care unii sunt toxici);

- numărul bacteriilor viabile este variabil (creşte progresiv şi ulterior începe să scadă prin îmbătrânire şi moarte);

- ritmul de diviziune este inegal: mai mare la început, când populația este tânără şi mediul optim, pentru ca apoi să scadă progresiv.

Ca urmare a caracterului stabil al compoziţiei calitative şi cantitative iniţiale acest tip de cultură a mai fost denumit cu termenul de **cultură statică**, fiind utilizată în mod curent în laborator.

Curba de creştere (evoluţia unei populaţii bacteriene)

Pentru a aprecia dinamica (evoluţia) multiplicării bacteriilor în culturi discontinue asincrone se recoltează eşantioane de cultură, care sunt analizate şi se determină numărul de bacterii/ml. Cifrele obţinute se înscriu într-un grafic, având pe abscisă notat timpul, iar pe ordonată valorile logaritmice ale numărului de celule. Rezultă o diagramă (**curba de creştere**) la care se pot distinge patru faze principale, caracterizate de valorile ratei de creştere: **faza de lag, faza de creştere exponenţială (logaritmică), faza staţionară** şi **faza de declin** (Fig. 89).

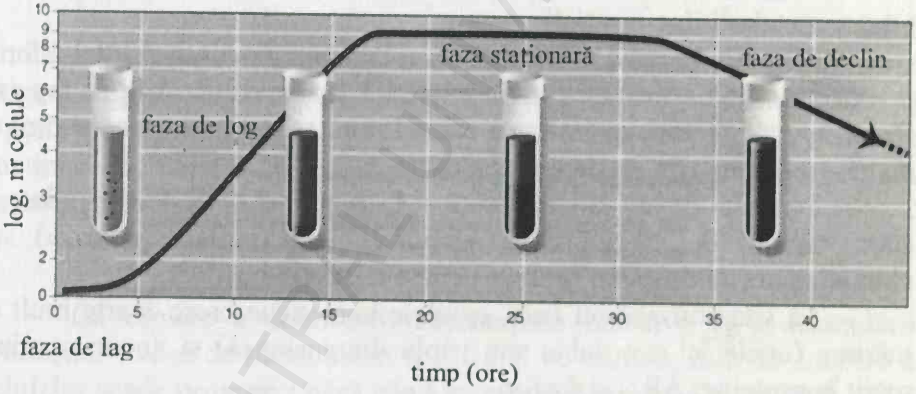


Fig. 89 – Curba de creştere a unei populaţii bacteriene

1. **Faza de lag** (engl. *to lag* = a întârzia) numită şi **fază de latenţă** sau de **creştere zero** reprezintă perioada de timp în care bacteriile introduse într-un mediu de cultură se acomodează noilor condiţii, au o activitate metabolică intensă (în special sinteză de enzime) şi încep să se multiplice.

În cursul acestei faze, numărul bacteriilor din inocul rămâne constant ($\mu = 0$), cultura nefiind vizibilă macroscopic.

Faza de latenţă este facultativă, apariţia ei depinde de doi factori principali: vârsta bacteriilor inoculate şi adaptarea enzimatică a acestora.

➢ ***Vârsta bacteriilor inoculate***

În cazul însămânţării celulelor tinere, de câteva ore, într-un mediu nou, faza de lag este extrem de scurtă, faţă de cazul culturilor bătrâne, la care creşterea a încetat de mult, fiind necesar un timp mai lung pentru ca

celulele din inocul să-şi refacă rezervele de ribozomi, sistemele enzimatice şi metaboliţii necesari creşterii.

În faza de lag un număr important de celule însămânţate pot să moară, iar celulele vii se găsesc într-o stare fiziologică puţin favorabilă, metabolismul lor fiind tulburat iar compoziţia lor chimică modificată. Aceasta presupune restaurarea şi reînnoirea mecanismelor biosintetice.

➢ ***Adaptarea enzimatică a bacteriilor inoculate***

În cazul însămânţării celulelor bacteriene tinere, aflate în faza de creştere exponenţială (logaritmică), într-un mediu de cultură nou, cu o compoziţie identică cu cel în care au fost cultivate bacteriile din inocul, ele se multiplică spontan, durata fazei de latenţă fiind foarte scurtă.

Perioada de lag este prelungită în cazul transferului unor celule cultivate dintr-un mediu bogat într-un mediu sărac, deoarece celulele trebuie să-şi formeze întregul set de enzime, necesar pentru sinteza tuturor metaboliţilor esenţiali.

Dacă noul mediu de cultură are o compoziţie chimică total diferită de cea a mediului din care provin bacteriile însămânţate, faza de lag este foarte lungă deoarece majoritatea celulelor nu se pot multiplica pentru că nu găsesc factorii de creştere indispensabili.

Perioada de lag este necesară şi în cazul celulelor lezate (aflate în stare viabilă) de efectul unor agenţi chimici (radiaţii, căldura) sau chimici, datorită timpului necesar pentru reparaţia celulară.

La sfârşitul acestei faze, celulele bacteriene cresc foarte mult ca mărime (unele îşi pot dubla sau tripla dimensiunea) şi au un conţinut mărit în proteine, ARN şi fosfor.

2. **Faza de creştere exponenţială (logaritmică)** numită şi **fază de log** urmează fazei de latenţă şi se caracterizează prin multiplicarea continuă a bacteriilor. Rata de creştere la început se măreşte progresiv, devenind maximă şi constantă (μ = max.), iar durata generaţiei atinge un minimum constant. Această fază poate fi reprezentată grafic printr-o linie dreaptă, care exprimă proporţionalitatea între numărul de celule şi rata de creştere. Mortalitatea celulară este nulă, numărul total de celule este egal cu numărul de celule viabile.

Bacteriile aflate în faza logaritmică au citoplasma omogenă, nu conţin materiale de rezervă şi au o mare afinitate pentru coloranţii bazici, datorită conţinutului lor ridicat în ARN. Mărimea lor este constantă, depăşind însă dimensiunile speciei (Zarnea, 1984).

În faza de log celulele au cea mai intensă activitate metabolică, aceasta reprezentând perioada de vârf a activităţii şi eficienţei în practica industrială.

S-a constatat o sensibilitate mărită a celulelor aflate în faza de creştere exponenţială la acţiunea agenţilor fizici şi chimici. De exemplu, radiaţiile şi numeroase substanţe antimicrobiene (penicilina) îşi exercită efectul, interferând cu una din etapele importante ale procesului de creştere, fiind mai nocive pentru celulele aflate în această fază.

Durata fazei exponenţiale (câteva ore) este limitată, datorită condiţiilor limitante care apar în mediul de cultură. Teoretic, o celulă bacteriană cu durata de generaţie de 20 minute, ar putea produce în 48 ore de creştere exponenţială 2^{144} celule, ceea ce ar reprezenta o biomasă de $2 \cdot 10^{28}$ tone, respectiv 4000 ori greutatea planetei noastre. Dar, fiecare populaţie bacteriană îşi autoreglează creşterea datorită unor factori limitanţi, care fac ca numărul celulelor bacteriene să fie limitat.

În culturile discontinue, atunci când concentraţia factorului limitant al creşterii (ex., sursa de C, N, energie) scade sub nivelul care asigură creşterea maximă sau este pe cale de a fi epuizat, se înregistrează o perioadă de încetinire a ritmului de creştere spre deosebire de culturile continue la care este posibilă menţinerea unei populaţii în faza exponenţială de creştere, indefinit.

3. Faza staţionară

Ca urmare a diminuării substanţelor nutritive şi a acumulării produşilor toxici de metabolism în mediul de cultură, rata de creştere a celulelor scade progresiv până când încetează complet. Celula intră astfel în faza staţionară, în cursul căreia numărul celulelor viabile este maxim şi rămâne constant o perioadă de timp. Există un echilibru între numărul celulelor moarte şi cel al celulelor rezultate din diviziune. Multiplicarea bacteriilor în faza staţionară nu încetează ci se limitează doar la înlocuirea celulelor moarte, ceea ce înseamnă că rata de creştere devine din nou nulă ($\mu = 0$).

În cursul fazei staţionare, celulele bacteriene sunt considerate mature, având morfologia caracteristică, dimensiuni mai mici decât în faza exponenţială, citoplasma mai puţin omogenă, datorită apariţiei de incluziuni şi acumulării de substanţe de rezervă, afinitate normală pentru coloranţi, prezenţa sporilor la speciile sporogene etc. (Zarnea, 1984).

În cele din urmă, numărul celulelor viabile scade progresiv şi începe declinul culturii.

4. **Faza de declin** încheie evoluţia unei culturi bacteriene realizată în sistem discontinuu. În funcţie de specie şi de condiţiile de cultură, după un interval de timp (de la câteva ore până la câteva zile), începe faza de declin, în care multiplicarea bacteriilor încetează ($\mu < 0$) iar rata de mortalitate este constantă. Bacteriile moarte autolizează sub acţiunea enzimelor proteolitice endogene. Prezenţa în mediu a unui substrat energetic (ex., glicerol, glucoză) poate accelera moartea celulelor, ceea ce demonstrează că funcţionarea enzimelor metabolice măreşte labilitatea celulelor în perioada de declin spre deosebire de Mg^{2+}, care întârzie acest proces.

Uneori, celulele rămase vii se mai pot multiplica pe baza substanţelor nutritive rezultate din autoliză, dar fenomenul este sporadic. Celulele din faza de declin au o morfologie alterată, conţin cantităţi mari de substanţe de rezervă, au afinitate pentru coloranţi.

Cultura sfârşeşte prin moartea tuturor celulelor şi autosterilizarea ei.

7.4.2. Culturi sincrone

Într-o cultură bacteriană nu toate celulele se divid în acelaşi timp (sincron), astfel încât se ajunge la o populaţie heterogenă, formată din indivizi care nu vor avea aceeaşi vârstă, fiind aflaţi în diferite faze ale ciclului de creştere şi multiplicare. Deoarece pentru o serie de studii morfologice, fiziologice, biochimice şi genetice este important să se lucreze pe celule de aceeaşi vârstă, respectiv pe celule care se divid sincron, s-au realizat culturi speciale, cu creştere şi multiplicare sincronă a indivizilor populaţiei respective.

Sunt cunoscute două categorii de culturi cu creştere sincronă (Zarnea şi colab., 1980, Stanier şi colab., 1986):

- **culturi sincrone** – în care toate bacteriile se divid în acelaşi timp, deoarece iniţial au fost selecţionate celule de vârste şi dimensiuni asemănătoare;
- **culturi sincronizate** – care au fost aduse în acelaşi stadiu de diviziune prin diferite tratamente fizice sau chimice. Tehnicile se bazează pe modificarea condiţiilor de mediu: expunerea la doze subletale de radiaţii, expunerea alternativă la temperaturi optime sau subletale de creştere, lipsa din mediul de cultură a unui factor esenţial de creştere, expunerea la acţiunea unui antibiotic care inhibă sinteza proteinelor etc. Principalul mijloc de obţinere a culturilor sincronizate este supunerea populaţiilor

bacteriene la schimbări ciclice de temperatură. Astfel, dacă o populaţie de *Salmonella typhimurium* aflată în multiplicare este supusă alternativ, pentru perioade determinate de timp, la temperatura optimă de dezvoltare (37^0 C) şi la altă temperatură, mai scăzută (25^0 C), întreaga populaţie se va divide sincron în timpul scurtei incubări (8 minute) la 37^0 C; în timpul incubării (28 minute) la 25^0 C populaţia rămâne constantă deoarece multiplicarea nu are loc la această temperatură, această alternare având loc de mai multe ori. Curba creşterii sincronizate are aspectul celei din Fig. 90.

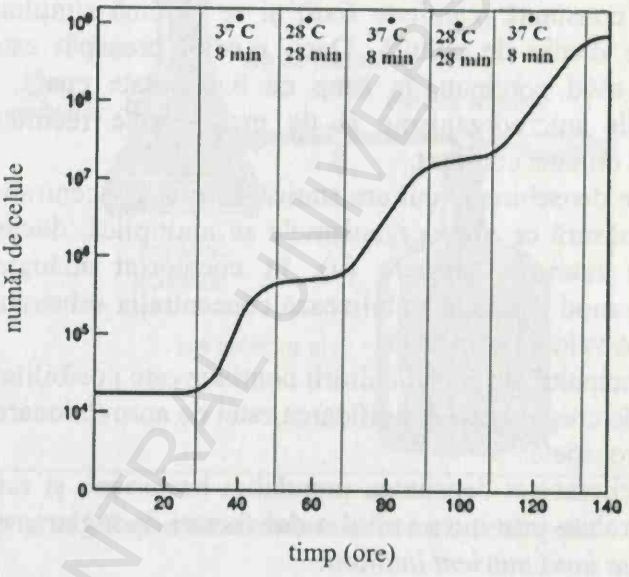


Fig. 90 – Curba creşterii sincronizate la *Salmonella typhimurium*

La nivel industrial, culturile sincrone sunt utilizate pentru exploatarea în totalitate a potenţialului tulpinilor producătoare.

7.4.3. Culturi continue

Procesele de biosinteză, industriale sau cele experimentale, de laborator, necesită existenţa bacteriilor în faza exponenţială de creştere. Acest lucru nu poate fi realizat timp îndelungat în condiţiile obişnuite de cultivare, într-un spaţiu închis, respectiv într-un volum fix de mediu nereînnoit, în care faza exponenţială nu poate dura decât câteva ore, având un număr limitat de generaţii, iar condiţiile de mediu (concentraţia

substanţelor nutritive sau a O_2) devin limitante. În aceste condiţii, prelungirea fazei exponenţiale se poate realiza numai dacă mediul de cultură este reînnoit continuu, odată cu eliminarea produşilor de metabolism.

Tehnica culturilor continue are la bază principiul diluţiei continue la volum sau densitate constante (Scriban, 1984; Scragg, 1988). Aparatele în care se realizează astfel de culturi se numesc **chemostate** (Fig. 91).

Chemostatul este un sistem de cultivare deschis, în flux continuu, în care se adaugă o cantitate de mediu de cultură proaspăt, cu o rată definită şi constantă (cantitate fixă) şi se elimină simultan o cantitate identică de mediu de cultură. Deci, mediul proaspăt este adăugat în cultură în mod continuu, în timp ce o cantitate egală, reprezentând surplusul de microorganisme şi de mediu, este recoltată pentru ca volumul să rămână constant.

Spre deosebire de cultura statică, în care concentraţia substratului scade pe măsură ce microorganismele se multiplică, ducând în final la diminuarea ratei de creştere (μ), în chemostat adăugarea mediului proaspăt în mod continuu stabilizează concentraţia substratului şi rata de creştere la o valoare constantă.

Principalul avantaj al culturii continue este posibilitatea de a putea varia rata de creştere prin modificarea ratei de aprovizionare cu substanţe nutritive proaspete.

În chemostat densitatea populaţiei bacteriene şi rata de creştere pot fi controlate prin intermediul a doi factori de reglare: *rata diluţiei* şi *concentraţia unui nutrient limitant*.

Rata de creştere poate fi variată în limite foarte largi prin modificarea ratei de diluţie (modificarea concentraţiei anumitor nutrienţi din mediu). Atunci când rata diluţiei este menţinută constantă, concentraţia componentelor din mediu devine constantă, stabilindu-se o stare de creştere echilibrată, care poate fi menţinută mult timp.

Nivelul de creştere în chemostat este menţinut la o valoare submaximală, datorită prezenţei unei concentraţii limitante a unui nutrient esenţial din mediu, care este continuu ajustat la un nivel inferior celui necesar creşterii maximale. În general, concentraţia nutrientului limitant este determinată de rata de diluţie a mediului de cultură. Densitatea populaţiei bacteriene va fi direct proporţională cu concentraţia nutrientului limitant al creşterii în mediul care este adăugat (Fig.92).

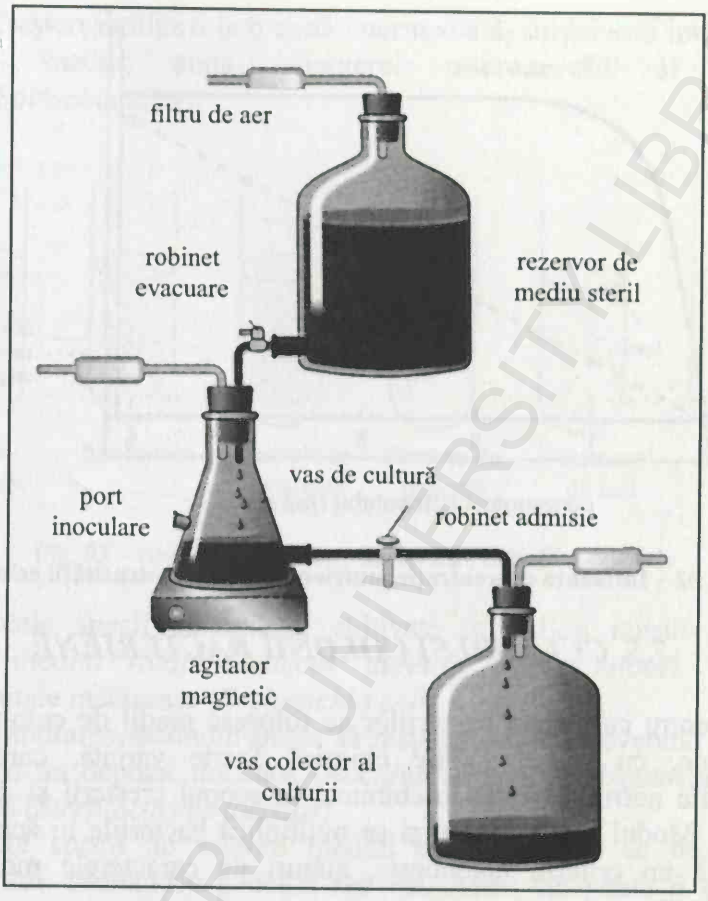


Fig. 91 – Reprezentarea schematică a unui chemostat

Chemostatul asigură în mod continuu o cultură care creşte indefinit, cu o viteză constantă, în condiţii constante, furnizând celule cu proprietăţi uniforme şi activităţi fiziologice optime.

În condiţii de laborator chemostatul poate fi utilizat în numeroase scopuri de cercetare:

- modele pentru studiul ecosistemelor microbiene naturale;
- controlul sintezelor enzimatice;
- studiul factorilor care influenţează creşterea şi multiplicarea bacteriilor;
- studii de fiziologie celulară.

Culturile continue se folosesc în practica industrială pentru:

- obţinerea biomasei microbiene bogate în nutrienţi;
- extragerea unor principii active rezultate în cursul proceselor metabolice la diferite specii de microorganisme (vitamine, enzime etc.).

BCU IAŞI - CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

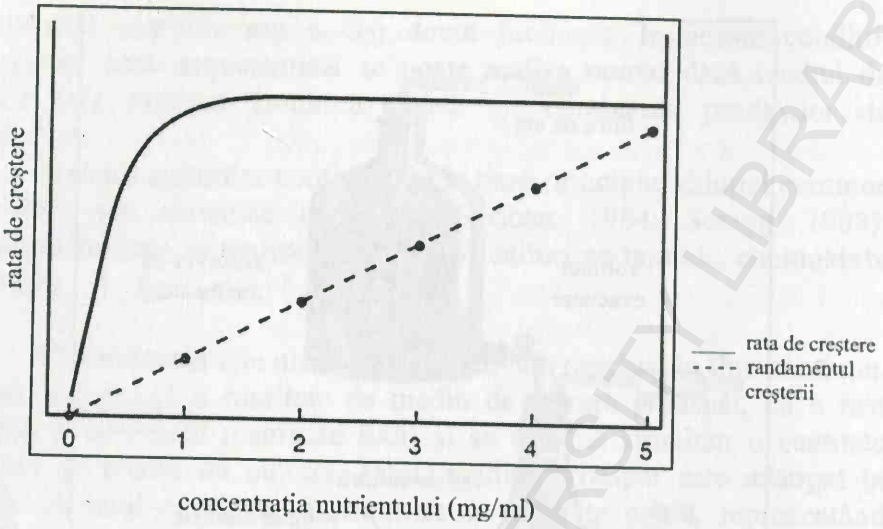


Fig. 92 – Influenţa concentraţiei nutrientului asupra densităţii celulare

7.5. CULTURI ŞI COLONII BACTERIENE

Pentru cultivarea bacteriilor se folosesc medii de cultură lichide sau solide, cu o compoziţie chimică foarte variată, care asigură necesităţile nutritive şi fizico-chimice, în scopul creşterii şi dezvoltării acestora. Modul în care cresc şi se multiplică bacteriile în aceste medii reprezintă un criteriu taxonomic, alături de caracterele morfologice, tinctoriale etc.

7.5.1. Culturi bacteriene în medii lichide

În medii lichide aspectul culturilor este diferit în funcţie de specia bacteriană şi de proprietăţile fizico-chimice ale mediului (Fig. 93).

- Creşterea culturii doar la suprafaţa mediului arată caracterul **strict aerob** al speciilor respective (*Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Azotobacter* sp.).
- Creşterea culturii numai la baza coloanei de mediu denotă caracterul **strict anaerob** al microorganismelor (*Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*).
- Creşterea culturii în toată coloana de mediu este caracteristică germenilor aerobi, facultativ anaerobi (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp.).

BCU "LUCIAN BLAGA" UNIVERSITY LIBRARY

➢ Creşterea culturii la o zonă intermediară, subiacentă interfeţei aer – mediu, arată caracterul **microaerofil** al bacteriei (*Spirochaetales*).

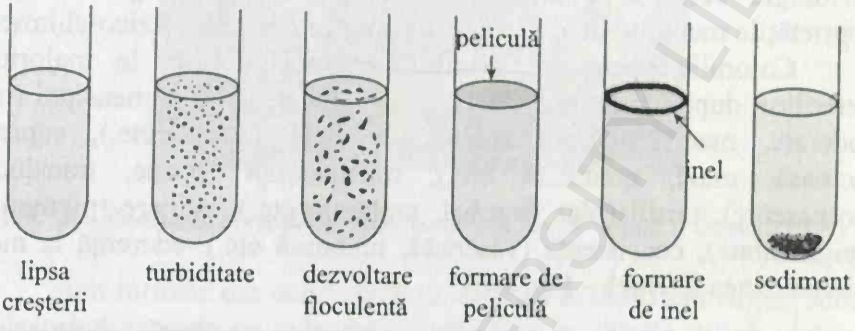


Fig. 93 – Aspectul culturilor bacteriene în bulion nutritiv

Unele specii bacteriene, cultivate în bulion nutritiv, tulbură uniform mediul (*Staphylococcus aureus*); altele tulbură bulionul, formând unde mătăsoase (*Escherichia coli*).

Tulburarea mediului poate să dispară, mediul devenind clar, dar prezentând un depozit floconos (*Bacillus anthracis*, *Streptococcus* sp.) sau vâscos (*Streptococcus faecalis*).

Alte specii nu tulbură mediul de cultură, ci se dezvoltă la suprafaţa lui, formând o peliculă sau văl. Acest văl poate fi subţire şi fragil (*Corynebacterium diphtheriae*), compact şi plisat (*Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*), gros şi gofrat (*Mycobacterium tuberculosis*) sau vâscos (*Pseudomonas aeruginosa*).

Există specii care formează la suprafaţa mediului lichid un inel (*Klebsiella pneumoniae*).

Aceste aspecte ale culturilor sunt valabile numai pentru bulionul nutritiv, după o incubare de 24-48 ore la temperatura optimă, aspectul culturilor vechi modificându-se.

7.5.2. Culturi bacteriene pe medii solide

Cultivate pe medii solide, bacteriile se dezvoltă sub forma unor colonii individuale sau confluente la suprafaţa sau în profunzimea mediilor.

Colonia bacteriană este o populaţie celulară rezultată în urma creşterii şi multiplicării uneia sau mai multor celule, aparţinând aceleiaşi

specii sau tulpini. Formarea ei pe mediile solide şi semisolide se explică prin lipsa mişcărilor browniene şi diminuarea mobilităţii bacteriene, fapt ce permite aglomerarea celulelor rezultate în urma diviziunilor succesive într-o arie limitată. Structura şi aspectul coloniei sunt determinate de morfologia celulelor componente, de modul lor de grupare şi de proprietăţile mediului de cultură, sub acţiunea factorilor fizico-chimici.

Coloniile bacteriene (vizibile cu ochiul liber la majoritatea bacteriilor, după un interval de 18-24 ore) diferă după dimensiuni (mici, moderate, mari), margini (lobate, buclate, întregi etc.), suprafaţă (lucioasă, mată, granulară etc.), transparenţă (opace, translucide, transparente), profil (plat, bombat, umbonat etc.), culoare (pigmentate, nepigmentate), consistenţă (vâscoasă, mucoasă etc.), aderenţă la mediu (aderente, neaderente) – Fig. 94.

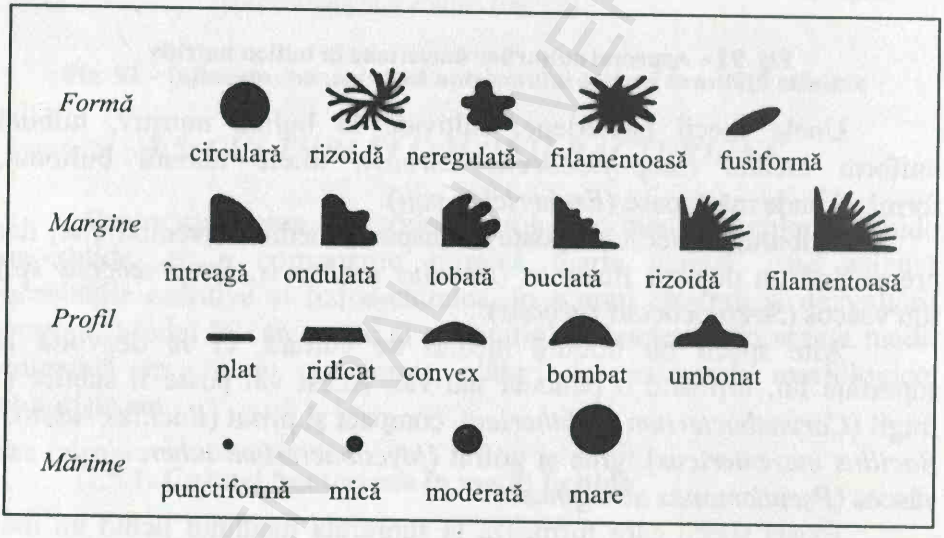


Fig. 94 – Caracteristicile morfologice ale coloniilor bacteriene

După aspectul morfologic, determinat de particularităţile morfo-funcţionale ale celulelor, aparţinând unei anumite tulpini sau specii, la bacterii au fost descrise două tipuri principale de colonii: de tip „S" (engl. *smooth* = neted) şi de tip „R" (engl. *rough* = rugos). Aspectul lor este determinat de factorii genetici care condiţionează capacitatea de sinteză a polizaharidelor capsulare.

- ***Coloniile de tip „S"*** – sunt netede, bombate, cu suprafaţa strălucitoare şi cu marginile regulate (Fig. 95).

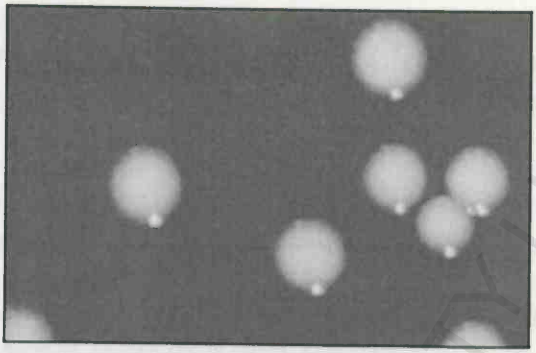


Fig. 95 – *Prevotella melaninogenica*: colonii de tip „S" (după Wistreich, 1999)

Sunt formate din celule izolate, dispuse în diplo sau lanţuri scurte. Se desprind uşor de pe substrat şi introduse în soluţie salină izotonică (NaCl 8,5 ‰) formează suspensii omogene. Bacteriile care pe medii solide formează astfel de colonii, cultivate în bulion tulbură uniform mediul. În cazul speciilor capsulate, celulele prezintă capsulă. La speciile patogene, tulpinile cu colonii de tip „S" sunt virulente şi prezintă o structură antigenică completă.

- ***Coloniile de tip „R"*** – sunt rugoase, turtite, cu suprafaţa zbârcită, aspră, cu marginile neregulate, dinţate (Fig. 96).

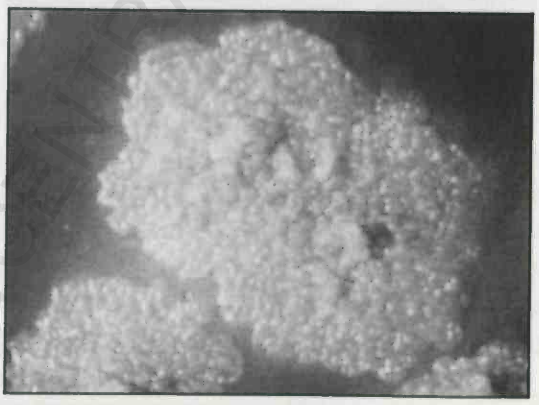


Fig. 96 – *Mycobacterium tuberculosis*: colonii de tip „R"
(după Wistreich, 1999)

De regulă, sunt formate din lanţuri încolăcite de celule. Aderă strâns de substrat şi nu se desprind uşor. În soluţie salină izotonică (NaCl 8,5 ‰) aglutinează spontan. În bulion se dezvoltă greu, formând sediment. Celulele sunt necapsulate chiar dacă aparţin unei specii

capsulate. Au structură antigenică incompletă (modificată). În cazul speciilor patogene, tulpinile cu colonii „R" sunt nevirulente sau slab virulente (cu excepția bacteriilor *Bacillus subtilis* şi *Mycobacterium tuberculosis*).

În afară de aceste două tipuri principale de colonii, la bacterii au mai fost descrise şi ***colonii mucoase*** (**tip *„M"***) şi ***colonii mobile.***

- ***Coloniile mucoase*** sau de tip ***„M"*** sunt de fapt colonii „S", dar celulele care le constituie sunt capsulate. Substanțele capsulare dau coloniilor o consistență mucoasă-vâscoasă, cu tendința de a se întinde pe mediu.

- ***Coloniile mobile*** – au capacitatea de a se deplasa pe suprafața mediilor solide printr-o mişcare de rotație levogiră sau de translație, datorită aparatului flagelar puternic al celulelor constituente. Sunt întâlnite la unele specii aparținând genului *Bacillus* (*Bacillus circulans*, *B. alvei*, *B. sphaericus*) - Fig. 97.

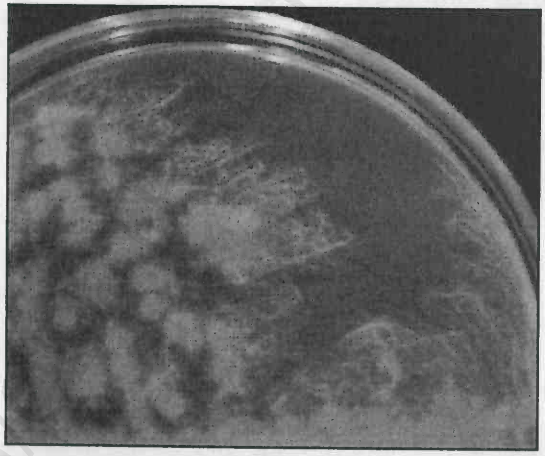


Fig. 97 – *Bacillus circulans*: colonii mobile (după Wistreich, 1999)

Bacteriile anaerobe, cultivate în profunzimea mediilor solide pot forma trei tipuri de colonii:

- *colonii lenticulare – biconvexe (Clostridium perfringens)*;
- *colonii pufoase (Clostridium sporogenes)*;
- *colonii arborescente (Clostridium septicum)* – Fig. 98.

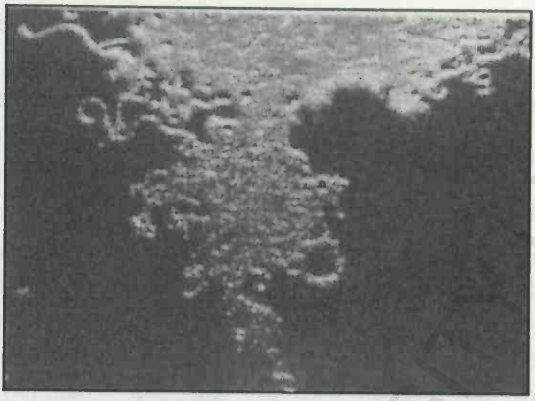


Fig. 98 – *Clostridium septicum*: colonii arborescente (după Wistreich, 1999)

7.6. INFLUENŢA FACTORILOR DE MEDIU ASUPRA CREŞTERII BACTERIILOR

Creşterea bacteriilor (ca şi a altor microorganisme) este influenţată de o serie de factori de mediu, dintre care cei mai importanţi sunt: concentraţia şi natura substratului nutritiv, apa, temperatura, pH-ul, O_2, CO_2, presiunea osmotică.

7.6.1. Concentraţia şi natura substratului nutritiv

Celula bacteriană este extrem de sensibilă la variaţiile concentraţiilor substratului nutritiv. Mărirea concentraţiei de substrat în mediul de cultură poate conduce la sporirea numărului de celule bacteriene, dar numai până la anumite limite, multiplicarea acestora fiind încetinită de procesele de inhibiţie care au loc la nivelul celulei. De exemplu, rata de creştere, studiată experimental la *Escherichia coli*, în funcţie de concentraţia glucozei, este proporţională la concentraţii mici de nutrienţi şi creşte pe măsură ce concentraţia acestora este mărită până la o valoare maximă, la care concentraţia maximă a nutrienţilor ajunge la un nivel inhibitor, când rata de creştere scade din nou.

Din acest motiv, pentru un sistem de biosinteză se stabileşte concentraţia optimă a substratului atât în momentul iniţial, cât şi pe parcurs. De exemplu, pentru foarte multe bacterii, concentraţia de 10-15 % în sursă de carbon (ex., glucoză, zaharoză) este inhibitoare, ele dezvoltându-se bine la valori ale sursei de carbon sub 10 % (Fig. 99). Alţi nutrienţi (sursa de azot, elemente minerale, vitamine, aminoacizi) pot

influenţa negativ rata creşterii la concentraţii inferioare substraturilor hidrocarbonate.

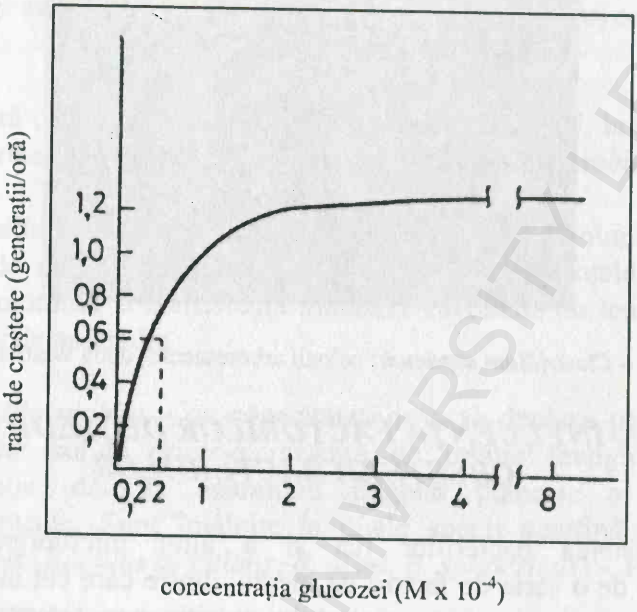


Fig. 99 – Efectul concentraţiei glucozei asupra ratei de creştere la *Escherichia coli* (după Stanier, 1976, cit. Zarnea 1984)

Natura substratului nutritiv este importantă şi poate modifica rata de creştere. Astfel, *Bacillus subtilis* cultivat pe un mediu sintetic cu citrat (ca sursă de carbon şi energie) are rata de creştere mai mică ($\mu = 0,3$) faţă de cultivarea în bulion nutritiv ($\mu = 2$).

7.6.2. Apa

Apa reprezintă un factor important fără de care funcţiile biologice ale microorganismelor nu se pot realiza. În prezenţa apei sunt activate sistemele enzimatice ale celulei bacteriene, fiind posibilă desfăşurarea activităţii metabolice, creşterea şi multiplicarea acestora.

Sporii microorganismelor sunt capabili să reziste perioade îndelungate de timp în lipsa apei, într-o stare de viaţă latentă, dar în condiţii favorabile de dezvoltare, în prezenţa apei, a elementelor nutritive şi a unei temperaturi optime, ei îşi recapătă vitalitatea, germinând şi refăcând microorganismul care i-a format.

BCU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

7.6.3. Temperatura

Temperatura reprezintă unul dintre cei mai importanţi factori de mediu care influenţează metabolismul, creşterea şi supravieţuirea microorganismelor.

Fiecare microorganism se caracterizează prin trei temperaturi de dezvoltare (***temperaturi cardinale***), respectiv o *temperatură minimă* (mai puţin favorabilă diviziunii celulare, care poate diminua în mod semnificativ), o *temperatură optimă* (la care se produce cea mai rapidă diviziune celulară, rezultând un număr maxim de celule pe unitatea de timp) şi o *temperatură maximă* (la care activitatea biologică a unui microorganism este încă posibilă iar multiplicarea poate fi evidenţiată)- Fig. 100.

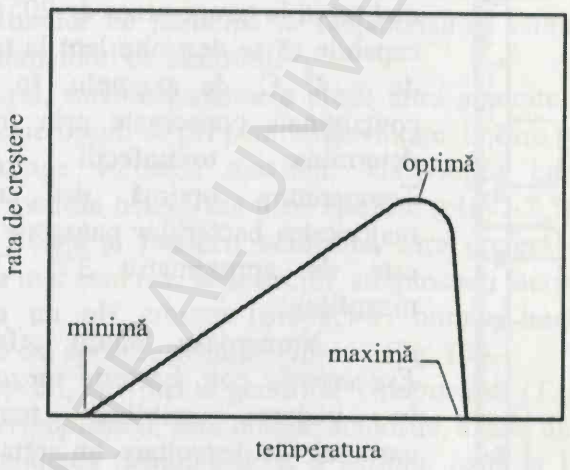


Fig. 100 – Temperaturile cardinale de dezvoltare ale unui microorganism

În funcţie de preferinţele termice bacteriile (ca şi celelalte microorganisme) au fost grupate în trei categorii, caracterizate prin următoarele valori ale limitelor temperaturilor optime de creştere:

- *psihrofile* sau *criofile* (15-18^0 C);
- *mezofile* (30 - 40^0 C);
- *termofile* (55 - 75^0 C).

În Fig. 101 sunt prezentate limitele temperaturilor de dezvoltare a microorganismelor.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

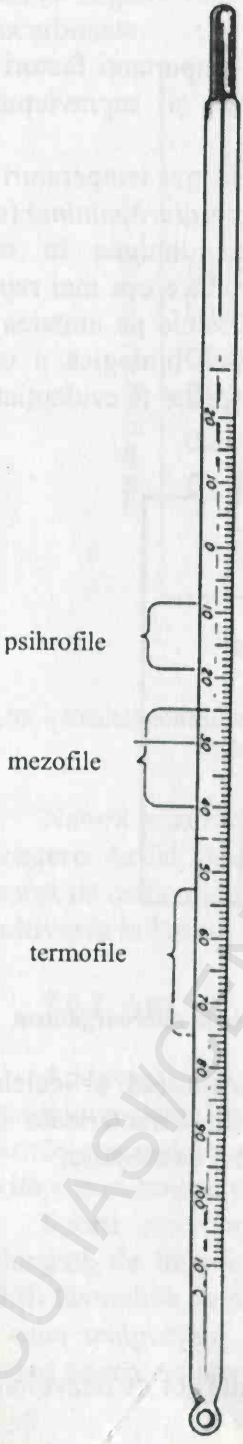


Fig. 101 – Limitele temperaturilor de dezvoltare a microorganismelor

De regulă, rata de creştere (μ) se dublează la o creştere a temperaturii cu 10^0 C. La temperaturi ridicate, scăderea ratei de creştere şi creşterea ratei de mortalitate se datorează denaturării termice a proteinelor şi a creşterii consumului de energie, necesar mecanismelor de menţinere şi reparaţie celulară.

Bacteriile psihrofile se multiplică mai rapid la temperatura de 20^0 C, dar sunt capabile să se dezvolte lent la temperatura de + 4^0 C, de exemplu, în alimentele contaminate conservate prin frig, putând determina toxiinfecţii alimentare. Temperatura optimă de creştere la majoritatea bacteriilor patogene pentru om este de aproximativ 37^0 C (bacterii mezofile).

Numeroase studii efectuate la *Escherichia coli*, bacterie mezofilă tipică, în vederea stabilirii temperaturilor cardinale de dezvoltare, au arătat că într-un mediu de cultură complex, optimul de dezvoltare este la 39^0 C, maximul la 48^0 C, iar minimul la 8^0 C. Aceste valori pot suferi variaţii funcţie de tipul tulpinii, al compoziţiei mediului de cultură etc.

Unele microorganisme termofile, ca de exemplu *Lactobacillus delbrueckii*, utilizat în industrie la producerea acidului lactic, necesită pentru dezvoltare o temperatură de 45^0 C. Din punct de vedere industrial, acest fapt constituie un avantaj important, deoarece înlătură în mod automat contaminarea cu alte micro-

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

organisme, care nu suportă această temperatură.

Pentru un proces de biosinteză industrial, temperatura poate fi considerată unul din parametri fizici cei mai importanţi, care este implicat prin efectele sale, în optimizarea procesului. Variaţiile temperaturii au efect asupra randamentului de transformare al substratului în produsul dorit, asupra cerinţelor nutritive ale microorganismului, asupra vitezei de creştere microbiană. De exemplu, o tulpină producătoare de penicilină necesită pentru creşterea masei celulare o temperatură de 30^0 C, pentru respiraţie 21,7-28,6^0 C, iar pentru producerea penicilinei 24,7^0 C.

7.6.4. pH-ul

pH-ul poate influenţa structura tridimensională a proteinelor, inclusiv a enzimelor ce participă la metabolismul celular, transportul nutrienţilor şi transferul de electroni.

În general, microorganismele cresc între anumite limite de pH, având un domeniu optim de pH pentru dezvoltare, în care viteza specifică de creştere atinge valoarea maximă. Majoritatea bacteriilor cresc preferenţial în mediile neutre sau uşor alcaline (pH=7-7,5), fiind numite şi **neutrofile**. Există şi **bacterii acidofile,** care preferă un pH scăzut (pH=5-5,5) sau mai acid (ex. lactobacilii, streptococii lactici etc.). Altele, se dezvoltă la un pH crescut (pH=8,5-9) numite **bacterii bazofile (alcalifile)** – de ex. speciile genului *Vibrio* – Fig. 102.

Unele specii, aparţinând genurilor *Thiobacillus* (*T. ferrooxidans*), *Sulfolobus*, *Thermoplasma*, sunt obligat acidofile, având un rol important în natură, în oxidarea tiosulfaţilor şi a sulfului până la H_2SO_4. Ele se dezvoltă la un pH de aproximativ 0, pH-ul crescut spre neutralitate, producând liza celulară. Alte bacterii, care hidrolizează urea şi produc NH_3 tolerează pH-uri foarte alcaline (10-11). Unele bacterii alcalifile au utilizări industriale deoarece produc enzime hidrolitice (proteaze, lipaze), ce funcţionează bine la pH alcalin, fiind utilizate la obţinerea detergenţilor.

Limitele de pH, specifice creşterii fiecărui microorganism, sunt folosite în biotehnologii pentru a reduce posibilitatea de contaminare a culturilor pure din bioreactoare. Este important să se determine şi să se corecteze pH-ul la valoarea convenabilă în fiecare fază a unui proces de fermentaţie industrială (faza de creştere şi faza de producţie). Aceasta datorită faptului că în fermentaţia industrială se pot forma CO_2 şi acizi organici, care acidifiază progresiv mediul, împiedicând dezvoltarea microorganismelor.

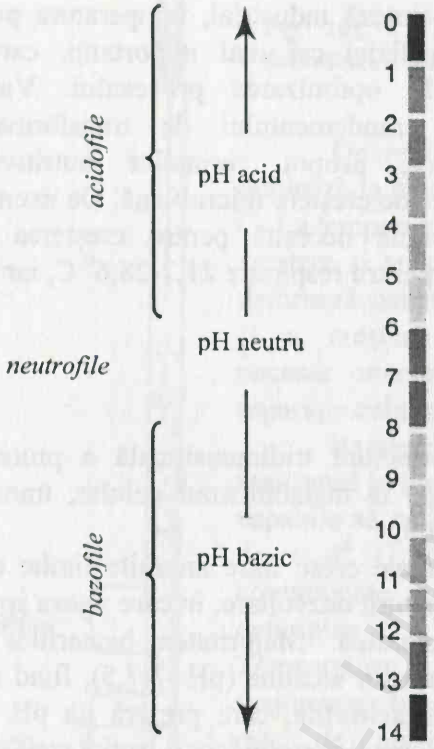


Fig. 102 – Clasificarea bacteriilor în funcţie de pH

În alegerea agenţilor de corectare a pH-ului trebuie ţinut cont de compoziţia chimică a mediului, de caracteristicile microorganismului etc. În cazul în care valoarea pH-ului este sub cea prescrisă se pot folosi pentru corecţie soluţii de NaOH sau KOH, K_2HPO_4, NH_3 gazos sau soluţie. În cazul în care valoarea pH-ului este peste cea prescrisă se pot adăuga HCl, H_2SO_4, HNO_3, KH_2PO_4. Folosirea fosfaţilor pentru prepararea mediilor de cultură este indicată, deoarece ei reprezintă singurele substanţe neutralizante care reglează pH-ul în limite optime, fără a avea efect toxic asupra bacteriilor, reprezentând şi o sursă de fosfor utilă în metabolismul bacterian.

7.6.5. O_2

Prezenţa oxigenului în mediul de cultură este esenţială pentru bacteriile strict aerobe, dar în acelaşi timp şi toxică pentru bacteriile obligat anaerobe. În Fig. 103 este prezentat modul de dezvoltare al bacteriilor în funcţie de prezenţa (absenţa) O_2.

BUAS CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

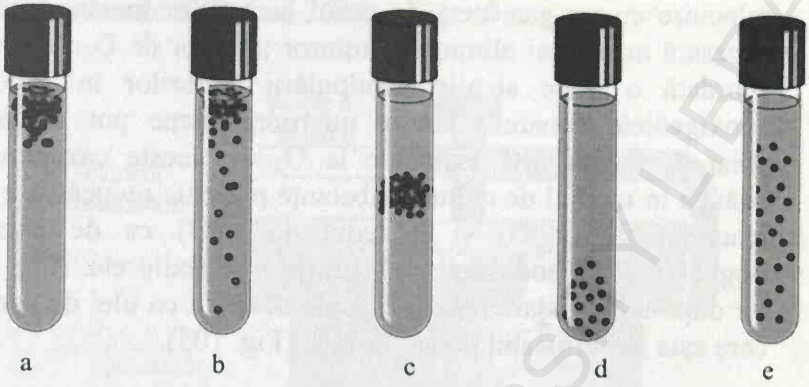


Fig. 103 – Creşterea bacteriilor în funcţie de concentraţia O_2: a - strict aerobe; b - facultativ anaerobe; c - microaerofile; d - strict anaerobe; e - anaerobe aerotolerante

- ***Bacteriile obligat aerobe*** (***strict aerobe***) folosesc exclusiv respiraţia aerobă (ex. *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Neisseria* sp.). În mediile lichide neagitate creşterea are loc numai la suprafaţa acestora (Fig. 103-a). Pentru a obţine culturi îmbogăţite de bacterii aerobe în medii lichide este necesară o aerare a mediului, realizată în vase agitate. În tuburi cu mediu solid coloniile se dezvoltă numai în orizontul superior.
- ***Bacteriile aerobe facultativ anaerobe*** au posibilitatea de a obţine energia atât pe cale oxidativă cât şi prin fermentaţii, cu un randament însă scăzut (ex. enterobacteriile, stafilococii). Sunt aerobe dar sunt capabile de creştere şi în lipsa oxigenului (Fig. 103-b).
- ***Bacteriile microaerofile*** se dezvoltă numai în prezenţa unor concentraţii reduse de O_2 (aproximativ 5-6 %), folosind exclusiv respiraţia aerobă (ex. *Campylobacter* sp.). Culturile se dezvoltă într-un orizont limitat, unde se realizează concentraţia respectivă (Fig. 103 - c).
- ***Bacteriile obligat anaerobe*** (***strict anaerobe***) folosesc exclusiv procesele fermentative pentru a obţine energia (ex. *Bacteroides* sp., *Clostridium* sp., *Fusobacterium* sp.), dezvoltându-se în lipsa oxigenului, în partea inferioară a tubului (Fig. 103 - d). Pentru acestea O_2 este toxic, datorită lipsei enzimelor (superoxid-dismutaza, catalaza, peroxidaza) care elimină radicalii toxici de oxigen, motiv pentru care se folosesc diferite metode pentru eliminarea sau blocarea acţiunii lui. Utilizarea unor vase de

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

cultură speciale (anaerostate) permite eliminarea O_2 şi eventuala înlocuire cu un gaz inert. În cazul bacteriilor metanogene este necesară nu numai eliminarea tuturor urmelor de O_2 dar trebuie acordată o mare atenţie manipulării culturilor în atmosferă anoxigenică, deoarece aceste microorganisme pot fi distruse chiar printr-o scurtă expunere la O_2. În aceste cazuri se pot adăuga în mediul de cultură substanţe puternic reducătoare (care reacţionează cu O_2 şi îl reduc la H_2O) ca de exemplu, tioglicolatul de sodiu, cisteina, sulfitul de sodiu etc. (Fig. 104), iar după însămânţare mediul trebuie acoperit cu ulei de parafină, care este impermeabil pentru oxigen (Fig. 105).

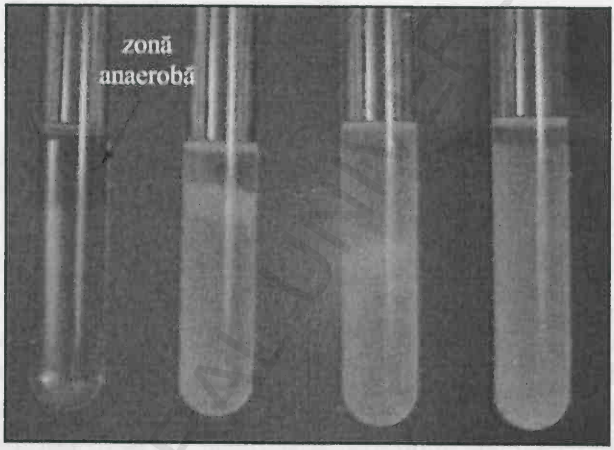


Fig. 104 – Cultivarea bacteriilor anaerobe în mediu cu tioglicolat

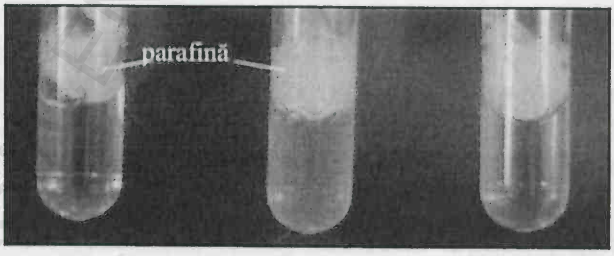


Fig. 105 – Cultivarea bacteriilor anaerobe sub ulei de parafină

În laboratoarele de diagnostic, cutiile Petri cu medii însămânţate pentru cultivarea bacteriilor anaerobe sunt plasate în recipiente transparente, închise ermetic, în care concentraţia O_2 scade sub 1%, fiind înlocuit cu un amestec de H_2 sau un gaz inert şi CO_2 (10%), utilizând un generator chimic. Atmosfera anaerobă este verificată cu ajutorul unei

benzi din hârtie de filtru impregnată cu o soluție de albastru de metilen care devine incoloră (Buiuc, 2003) – Fig. 106.

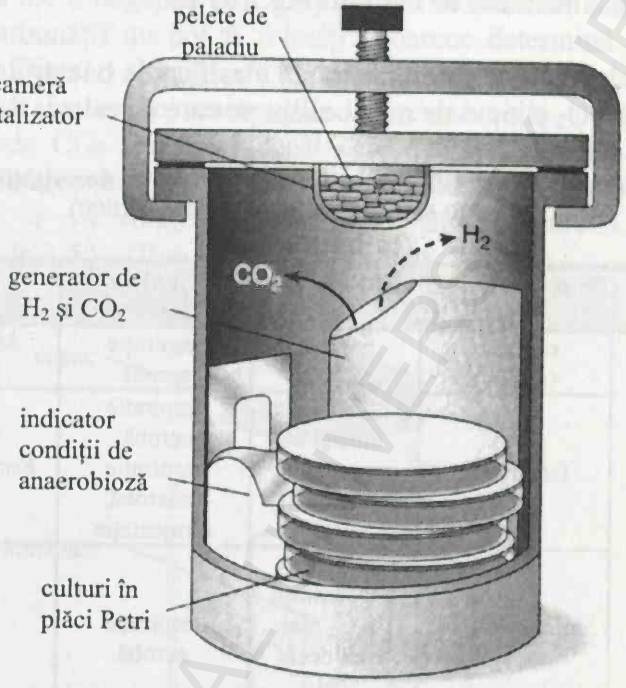


Fig. 106 – Recipient pentru incubarea în anaerobioză a bacteriilor

Pentru cercetările extensive cu microorganisme anaerobe se pot utiliza boxe anoxigenice ce permit lucrul cu recipientele deschise în atmosferă complet lipsită de O_2 – Fig. 107

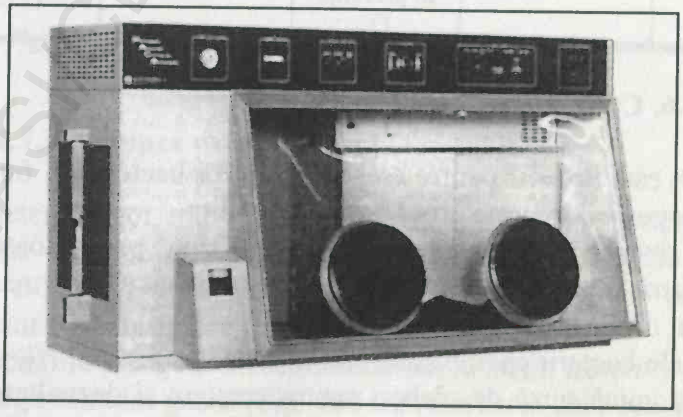


Fig. 107 – Boxă anoxigenică

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- ***Bacteriile anaerobe aerotolerante*** – au un metabolism de tip fermentativ, dar rămân viabile în prezenţa oxigenului (ex., streptococii, lactobacilii). Dezvoltarea lor se observă în toată coloana mediului de cultură (Fig. 103-e).

În Tabelul XIV este prezentată clasificarea bacteriilor funcţie de necesităţile în O_2 şi tipul de metabolism pe care îl realizează.

Tabel XIV – Clasificarea bacteriilor funcţie de necesităţile în O_2
(după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

Grup		Relaţia cu O_2	Tipul de metabolism	Exemple
Aerobe	obligate (stricte)	prezent	respiraţie aerobă	*Micrococcus luteus*
	facultative	absent, cresc bine şi în prezenţa O_2	respiraţie aerobă, respiraţie anaerobă, fermentaţie	*Escherichia coli*
	microaerofile	necesită concentraţii în O_2 mai mici decât cel atmosferic	respiraţie aerobă	*Spirillum volutans*
Anaerobe	obligate (stricte)	dăunătoare sau letală	fermentaţie, respiraţie anaerobă	*Methanobrevibacterium formicicum*
	aerotolerante	nu necesită şi nu cresc în prezenţa O_2	fermentaţie	*Streptococcus pyogenes*

7.6.6. CO_2

CO_2 este necesar pentru creşterea tuturor bacteriilor, fiind în mod obişnuit disponibil în urma proceselor metabolice.

La bacteriile care cresc greu sau sunt pretenţioase nutritiv (*bacterii fastidioase*), CO_2 nu rezultă din metabolism şi ca urmare, trebuie suplimentat din exterior.

Unele bacterii chemoautotrofe, aparţinând genului *Nitrosomonas*, folosesc ca unică sursă de carbon pentru creştere şi dezvoltare CO_2 din atmosferă. Concentraţia naturală a acestuia este foarte scăzută (0,03% în

atmosfera liberă) şi din acest motiv este necesară adăugarea în mediul de cultură a unei surse generatoare de CO_2. Dacă se adaugă în mediu un carbonat insolubil ($CaCO_3$ sau $MgCO_3$), pentru a preveni scăderea pH-ului, va avea loc o degajare de CO_2 prin descompunerea carbonaţilor. În schimb, bicarbonaţii nu pot fi folosiţi deoarece determină simultan cu degajarea de CO_2 şi o alcalinizare a mediului.

Pentru *bacteriile carboxifile* (care necesită pentru creştere concentraţii de CO_2 mai mari decât cele din aer) o metodă simplă o constituie plasarea în recipient a unei lumânări aprinse, din ceară de albine, care se va stinge când în aerul din incintă, CO_2 atinge o concentraţie de 3-5% (Buiuc, 2003) - Fig. 108.

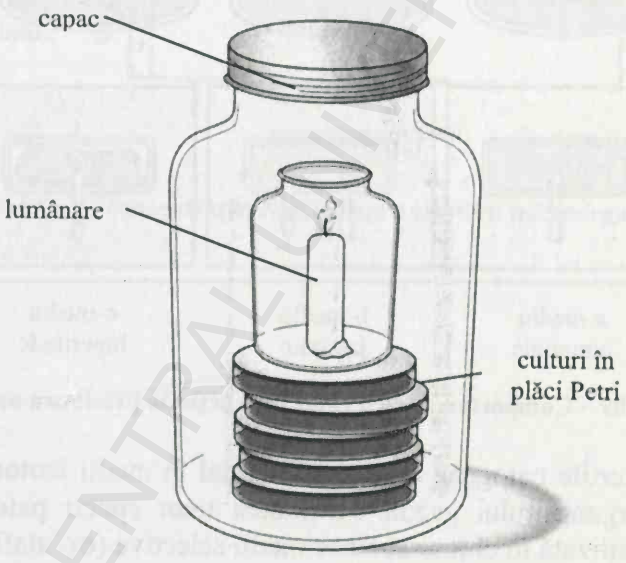


Fig. 108 – Metodă simplă de incubare a culturilor bacteriene în atmosferă cu CO_2

7.6.7. Presiunea osmotică

Bacteriile pot trăi în *medii hipotonice* (*hipoosmotice*), în care concentraţia soluţiei din exteriorul celulei este mai mică decât în interiorul celulei (Fig. 109-a), deoarece peretele celular reuşeşte să limiteze cantitatea de apă ce pătrunde în celulă.

Bacteriile patogene cresc preferenţial în *medii izotonice* cu mediul intern al organismului gazdă (Fig. 109-b). Afinitatea unor specii patogene pentru NaCl este utilizată în obţinerea unor medii selective.

Atunci când concentraţia soluţiilor din exteriorul celulei este mai mare decât în interiorul celulei (medii *hipertonice* sau *hiperosmotice*), celulele bacteriene suferă fenomenul de *plasmoliză* (pe care se bazează conservarea alimentelor prin saramurare) – Fig. 109-c.

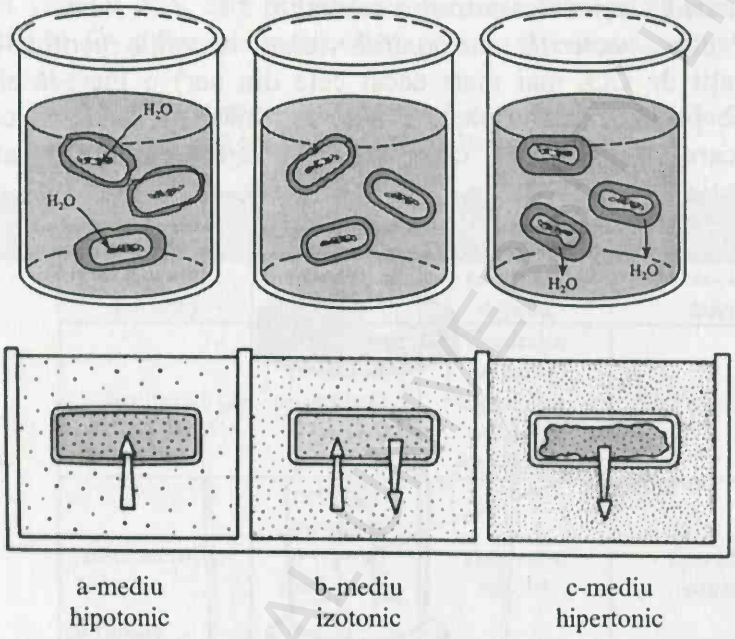


Fig. 109 – Comportarea bacteriilor în funcţie de presiunea osmotică

Bacteriile patogene cresc preferenţial în medii izotone cu mediul intern al organismului gazdă. Afinitatea unor specii patogene pentru NaCl este utilizată în obţinerea unor medii selective (ex. stafilococii).

Bacteriile care se dezvoltă la concentraţii crescute de NaCl (peste 1%), se numesc *halofile* şi se întâlnesc în apele marine. Unele specii pot fi *slab halofile* (se dezvoltă în prezenţa unei concentraţii de 1-6 % NaCl), altele sunt *moderat halofile* (capabile să tolereze concentraţii de 6-15 % NaCl) sau *halofile extreme* (care necesită NaCl în concentraţii de 15-30 % NaCl) – Fig. 110.

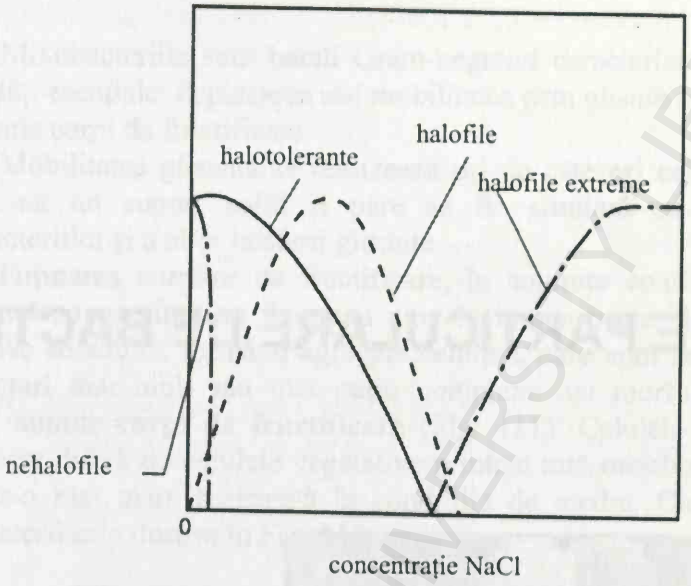
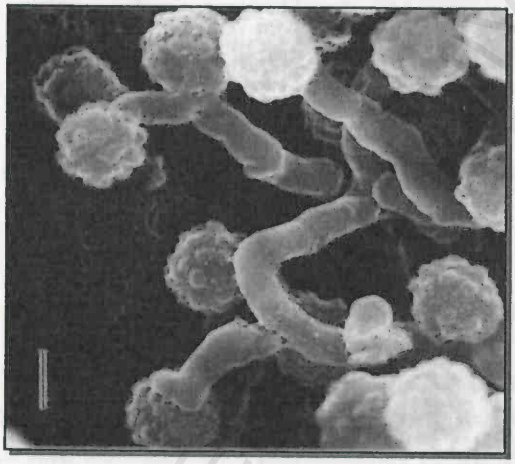


Fig. 110 – Efectul concentraţiei NaCl asupra creşterii microorganismelor

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

8

GRUPE PARTICULARE DE BACTERII



Spori la *Streptomyces* sp.

8.1. Mixobacteriile
8.2. Spirochetele
8.3. Actinomicetele
8.4. Rickettsiile
8.5. Chlamidiile
8.6. Micoplasmele

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

8.1. MIXOBACTERIILE

Mixobacteriile sunt bacili Gram-negativi caracterizați prin două proprietăți esențiale: deplasarea sau mobilitatea prin glisare și capacitatea de a forma corpi de fructificare.

Mobilitatea glisantă se realizează ori de câte ori celulele vin în contact cu un suport solid și pare să fie similară cu mobilitatea cianobacteriilor și a altor bacterii glisante.

Formarea corpilor de fructificare, în anumite condiții fizice și nutriționale, reprezintă un fenomen unic în lumea bacteriilor. Celulele vegetative se adună, formând agregate celulare, care apoi se transformă în structuri mai mult sau mai puțin complexe, cu morfologie foarte variată, numite **corpi de fructificare** (Fig. 111). Celulele corpilor de fructificare diferă de celulele vegetative printr-o rată metabolică scăzută și printr-o mai mare rezistență la condițiile de mediu. Ciclul vital la mixobacterii este ilustrat în Fig. 112.

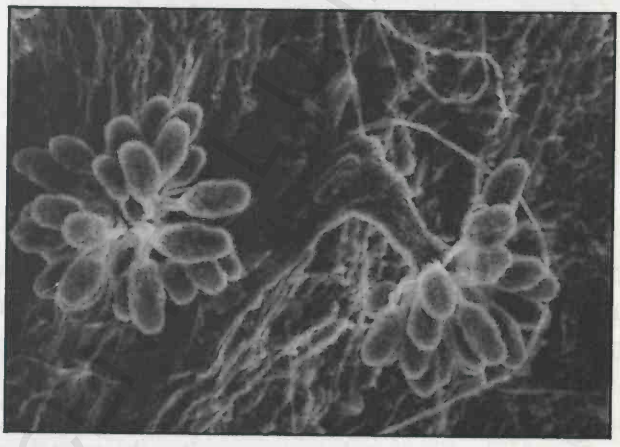


Fig. 111 – Corpi de fructificare la *Stigmatella aurantiaca*: imagine electronomicroscopică (după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 3, 1989)

Formarea corpilor de fructificare se află sub directa influență a mediului nutritiv. Mediile nutritive bogate favorizează dezvoltarea celulelor vegetative, în timp ce mediile carențate în nutrienți duc la formarea corpilor de fructificare. Un mediu de cultură determinat, care asigură dezvoltarea mixobacteriei *Myxococcus xanthus*, poate induce formarea corpilor de fructificare prin îndepărtarea triptofanului și

fenilalaninei, ceea ce sugerează că lipsa unor acizi aminici în mediile de cultură sau în mediile naturale induce formarea corpilor de fructificare.

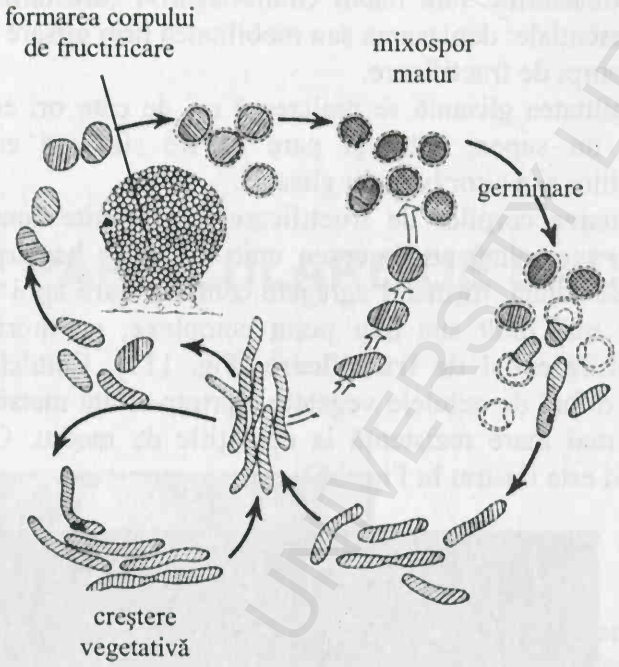


Fig. 112 – Ciclul de dezvoltare la *Myxococcus xanthus*

Complexitatea structurală a corpilor de fructificare diferă. La speciile genului *Myxococcus* corpii de fructificare au o structură simplă, fiind constituiți dintr-o proeminență piriformă care include celulele vegetative într-o matrice mucoasă. La reprezentanții genurilor *Chondromyces* şi *Stigmatella* structura este mai complexă, corpii de fructificare având forma unor tulpinițe numite chistofori, purtătoare de chişti (mixochişti).

Obişnuit viu pigmentați, corpii de fructificare reprezintă stadiul de rezistență, de aşteptare (*resting stage*) în ciclul de viață al mixobacteriilor. În condiții favorabile de nutriție şi umiditate, celulele de rezistență (*resting cells*) sau mixochiştii vor germina, dând naştere la alte celule vegetative.

Celulele vegetative sunt bacilare, alungite (0,8-1,2 x 2,5-6 μm), cu capetele turtite la genul *Chondromyces*, helicale la genurile *Cystobacter* şi *Stigmatella*. Structural, ele nu se deosebesc fundamental de celulele bacteriilor Gram-negative, conținând doar cantități mai mici de mureină.

Mixochiştii (celulele de aşteptare sau de rezistenţă) sau mixosporii reprezintă celulele care apar în ciclul de dezvoltare al mixobacteriilor, în corpii de fructificare şi care sunt dotate cu proprietăţi de rezistenţă (Fig. 113). La mixobacterii întâlnim două tipuri de mixospori: unii sunt rotunzi, capsulaţi, refringenţi, întâlniţi la familia *Myxococcaceae*, iar ceilalţi, de forma unor bacili scurţi, nerefringenţi şi lipsiţi de capsulă, specifici pentru familia *Archangiaceae*. Deşi mai puţin rezistenţi decât endosporii, mixosporii sunt mai rezistenţi la temperatură, uscăciune, radiaţii UV şi alţi factori decât celulele vegetative.

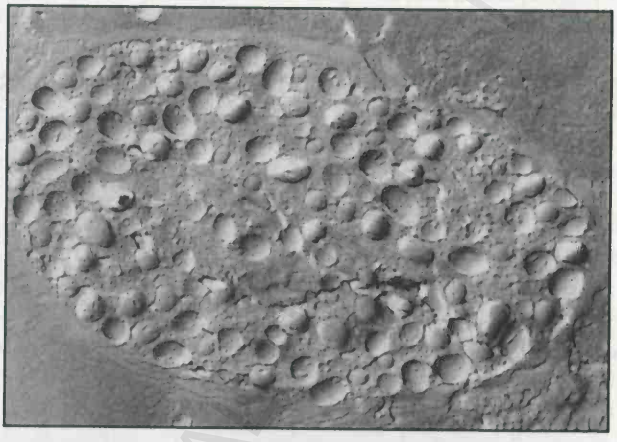


Fig. 113 – Sporangiu cu mixospori la *Nannocystis exedens*: imagine electronomicroscopică (după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 3, 1989)

Din punct de vedere nutriţional mixobacteriile sunt heterotrofe aerobe. Ele pot hidroliza o mare varietate de macromolecule insolubile, dar în mod obişnuit nu pot utiliza zaharurile. Necesită o sursă organică de azot, dezvoltându-se bine pe medii cu hidrolizate enzimatice de proteine. Unele specii nu se dezvoltă în medii lichide. Creşterea pe medii solide este dependentă de concentraţia acestora în substanţe nutritive. Puţine specii sunt celulozolitice.

Mixobacteriile sunt ubicuitare în sol, în nămolurile apelor dulci şi marine, pe diferite resturi vegetale în descompunere (lemn). Rolul lor în circuitul materiei este incontestabil, datorită capacităţii de a hidroliza macromolecule ca: celuloza, chitina, amidonul, peptidoglicanul etc.

Capacitatea mixobacteriilor de a agrega şi de a forma corpi de fructificare multicelulari este considerată ca o trecere de la viaţa unicelulară la modul de viaţă multicelular, mixobacteriile reprezentând cea mai simplă şi primitivă comunitate de viaţă organizată cunoscută.

Ciclul lor de viață este analog ciclului vital de la unele ciuperci primitive. Diferențele în organizarea celulară între aceste grupe arată că nu există relații evolutive între ele, ci numai un strâns paralelism. Aceste cicluri reprezintă un foarte bun exemplu de evoluție convergentă, respectiv dobândirea, prin selecție naturală, a unor proprietăți biologice similare la două grupe total diferite.

După Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 3, 1989, mixobacteriile prezintă următoarea încadrare taxonomică (Tabel XV).

Tabel XV – Încadrarea taxonomică a mixobacteriilor

Secțiunea	Ordinul	Familia	Genul	Specia
24 Mixobacterii	*Myxococcales*	I. *Myxococcaceae*	*Myxococcus*	*M. fulvus*
		II. *Archangiaceae*	*Archangium*	*A. gephyra*
		III. *Cystobacteraceae*	I. *Cystobacter*	*C. fuscus*
			II. *Melittangium*	*M. boletus*
			III. *Stigmatella*	*S. aurantiaca*
		IV. *Polyangiaceae*	I. *Polyangium*	*P. vitellinum*
			II. *Nanocystis*	*N. exedens*
			III. *Chondromyces*	*C. crocatus*

8.2. SPIROCHETELE

Spirochetele sunt bacterii Gram-negative, unicelulare, subțiri, flexuoase, helicale, cu mai multe ture de spiră, având o lungime cuprinsă între 5 - 500 μm și o grosime de numai 0,1- 3 μm (Fig. 114).

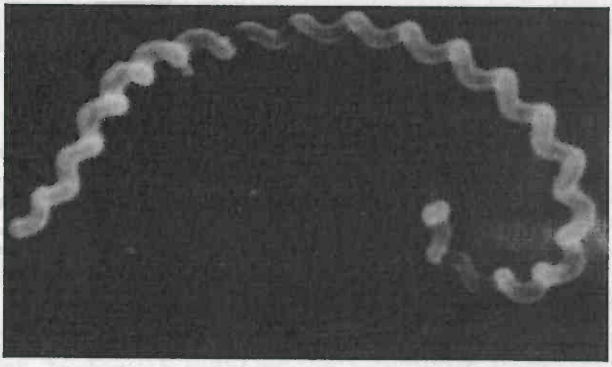


Fig. 114 – *Leptospira interrogans*: imagine electronomicroscopică (după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1, 1984)

Dimensiunile mici fac dificilă observarea lor la microscopul fotonic, dar pot fi observate în contrast de fază sau la microscopul cu câmp întunecat. Din aceleaşi cauze, ele străbat filtrele impermeabile pentru majoritatea bacteriilor.

Spirochetele se deosebesc de celelalte bacterii şi prin alte caracteristici. Nu sunt sporulate, nu pigmentează şi prezintă unele particularităţi structurale.

Cercetările electronomicroscopice au evidenţiat în celula spirochetelor trei structuri principale: membrana externă, cilindrul protoplasmatic şi filamentele axiale dispuse între ele (Fig. 115).

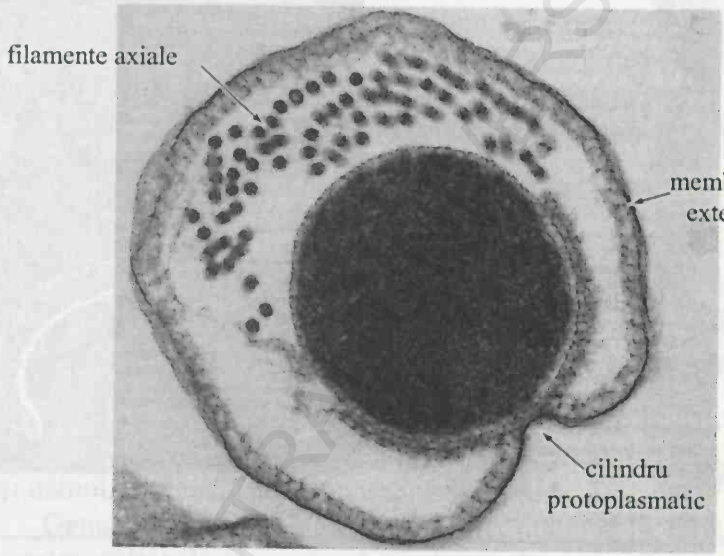


Fig. 115 – Secţiune transversală prin celula unui spirochet: imagine electronomicroscopică
(după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1, 1984)

Membrana externă este tristratificată şi are o grosime de 80-140 Å. Cilindrul protoplasmatic este acoperit tot de o membrană tristratificată, groasă de 80-100 Å. Între aceste două formaţiuni se află filamentul axial, flexibil, constituit dintr-un sistem de fibrile contractile inserate de capetele celulei în jurul căreia se înrulează, prin nişte formaţiuni butonate (Fig. 116).

Tratarea spirochetelor cu tripsină îndepărtează membrana externă, astfel încât filamentul axial rămâne liber. Structura şi numărul fibrelor filamentului axial variază la diferite specii şi genuri. La leptospire filamentul axial numit şi axistil are un diametru mai mare decât la alte

spirochete şi este format din două fibre incluse într-o teacă comună. La alte spirochete (genurile *Spirochaeta*, *Treponema*, *Borrelia*), filamentul axial conţine câteva zeci de fibre, fără a prezenta un înveliş extern care să le lege unele de altele. La speciile genului *Cristispira*, filamentul axial poate conţine de la 50 până la câteva sute de fibre. Acest gen îşi datorează numele de la faptul că fasciculul gros de fibre al filamentului axial formează o creastă înrulată în jurul celulei, observabilă la microscopul fotonic.

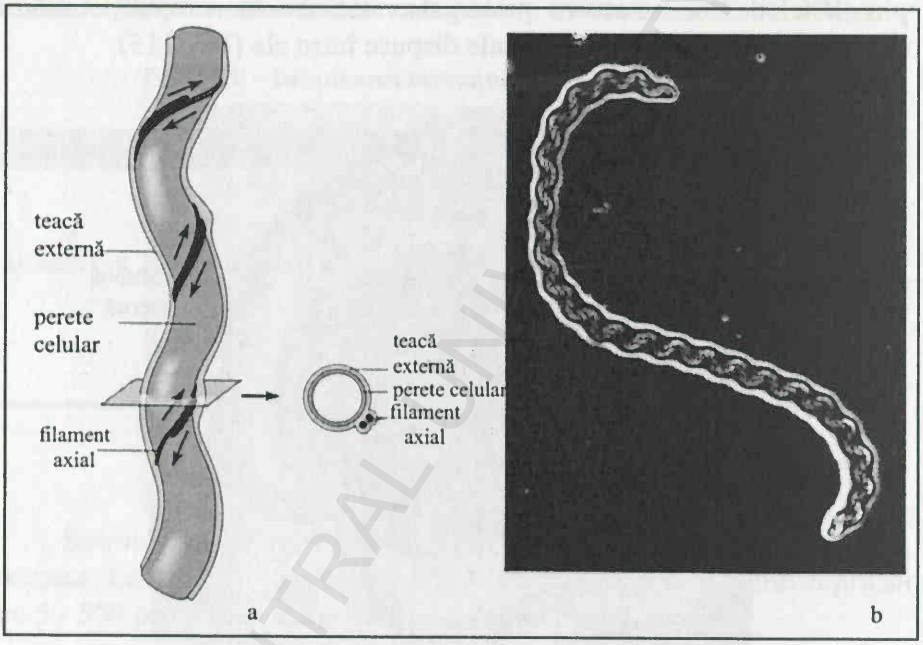


Fig. 116 – Filamentele axiale la spirochete: a - schemă; b - imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

Ruperea filamentului axial în regiunea mijlocie antrenează pierderea formei helicale a spirochetelor, dar fibrele filamentului rămân fixate pe capetele celulei, dându-i aspectul de celulă ciliată bipolar. Acest fapt sugerează că filamentul axial determină forma helicală a spirochetelor.

În culturi vechi de spirochete se pot observa formaţiuni anormale, aberante, granulare, cocoide sau sferoide, cu diametrul de 2-5 μm. Acestea apar ca urmare a dizolvării membranei externe şi acumulării de apă intracelular. Corpul celular rămâne neschimbat, sferoizii reprezentând forme de degenerare şi nu un stadiu al unui ciclu de

dezvoltare. Asemenea formaţiuni apar şi în urma tratării spirochetelor cu penicilină.

Datorită filamentului axial, spirochetele se deplasează prin mişcări serpentiforme. Ele se multiplică prin diviziune directă. Diviziunea celulară implică mai întâi diviziunea protoplastului, urmată apoi de diviziunea membranei externe şi separarea celulelor fiice. Fiecare celulă va prezenta un set de fibre care vor forma filamentul axial.

Spirochetele cuprind specii aerobe şi anaerobe. Unele trăiesc în stare liberă, saprofite, în natură, altele sunt parazite şi patogene pentru om şi animale.

După Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1, 1984, spirochetele prezintă următoarea încadrare taxonomică (Tabel XVI).

Tabel XVI – Încadrarea taxonomică a spirochetelor

Secţiunea	Ordinul	Familia	Genul	Specia
I Spirochete	*Spirochaetales*	I. *Spirochaetaceae*	I. *Spirochaeta*	*S. plicatilis*
			II. *Cristispira*	*C. pectinis*
			III. *Treponema*	*T. pallidum*
			IV. *Borrelia*	*B. recurrentis*
		II. *Leptospiraceae*	I. *Leptospira*	*L. interrogans*

Genul *Spirochaeta* cuprinde specii saprofite, anaerobe sau facultativ anaerobe. *S. plicatilis* este acvatică, întâlnindu-se în zonele cu apă şi nămol. *S. litoralis* este anaerobă şi marină.

Genul *Cristispira* cuprinde specii întâlnite în tubul digestiv al moluştelor dulcicole şi marine (*Anodonta*, *Pecten*): *Cristispira pectinis*, *C. hartmanii*.

Genul *Treponema* cuprinde specii de dimensiuni mici, anaerobe, întâlnite în cavitatea bucală, tubul digestiv şi regiunea organelor genitale la om şi animale. Unele specii sunt patogene: *Treponema pallidum*, agentul etiologic al sifilisului la om.

Genul *Borrelia* cuprinde specii de dimensiuni mici, anaerobe, parazite la artropode, vertebrate şi om. Specia tip, *Borrelia recurrentis*, produce la om febra recurentă transmisă prin păduche.

Genul *Leptospira* cuprinde cele mai mici spirochete aerobe, unele saprofite, altele parazite şi patogene pentru om şi animale. *Leptospira biflexa* – saprofită, întâlnită în apele duci. *Leptospira interrogans* – parazită-patogenă, cuprinde mai multe serotipuri, dintre care *L. icterohaemorrhagiae* este agentul etiologic al icterului infecţios la om.

8.3. ACTINOMICETELE

Actinomicetele reprezintă un grup de microorganisme miceliene a căror poziție taxonomică a fost extrem de controversată. Descrise inițial ca ciuperci, datorită miceliului lor cu structură similară miceliului fungic, actinomicetele au fost considerate apoi ca un grup intermediar între bacterii şi ciuperci. Cercetările moderne au arătat însă că actinomicetele sunt procariote, posedă un perete celular de tip bacterian, sunt sensibile la lizozim şi la fagii specifici (actinofagi), sensibile la antibioticele antibacteriene şi rezistente la antibioticele antifungice. Aceste caractere au determinat încadrarea actinomicetelor printre bacterii, ca bacterii miceliene.

Habitat

În marea lor majoritate saprofite, actinomicetele au fost întâlnite, cu o frecvență mai mare sau mai mică, în cele mai variate biotopuri, dar populațiile cele mai dense se întâlnesc în sol. Mai puțin numeroase decât bacteriile, dar mai numeroase decât ciupercile, actinomicetele reprezintă, după unii autori, aproximativ 25 % din microflora solului. Taber (1960) găseşte în solurile fertile din diferite regiuni ale globului, 5 x 10^6 actinomicete pe g de sol în straturile superficiale aerate, numărul lor scăzând spre profunzime. Ele preferă solurile neutre sau alcaline, sunt puțin numeroase în solurile acide sau lipsesc din tundra asiatică şi tundra nord-suedeză sau în solurile Marelui Deşert Sărat din S.U.A. Speciile termofile se găsesc în bălegar, iar unele specii sunt acvatice. Se cunosc numai câteva specii parazite, patogene pentru plante, animale şi om.

În sol actinomicetele îndeplinesc cel puțin trei roluri : descompun substanțele organice, contribuie la formarea structurii solului şi sunt răspunzătoare de mirosul caracteristic al acestuia.

Morfologie şi structură

Caracteristica morfologică a actinomicetelor este miceliul format din hife subțiri, lungi, drepte sau curbate, ramificate, cu diametrul de 0,3-1,3 μm, în general neseptate (Fig. 117). Miceliul actinomicetelor formează o singură celulă.

În sol sau cultivate în medii lichide, miceliul actinomicetelor se fragmentează, dând naştere la celule cu aspect bacilar sau cocoid.

În general sunt sporogene, imobile, cu excepția *Actinoplanaceaelor* şi a altor câteva specii.

Structura internă a actinomicetelor este foarte asemănătoare cu cea a bacteriilor. Citoplasma miceliului tânăr este omogenă dar pe

măsură ce celula îmbătrâneşte ea se diferenţiază, în sensul că apar incluziunile metacromatice, picăturile lipidice şi vacuolele. Sunt procariote, având material nuclear şi nu un nucleu adevărat. În hifele miceliene numărul nucleoizilor este variabil, însă sporii conţin numai un singur nucleoid. În hifele îmbătrânite nucleoizii formează aglomerări amorfe.

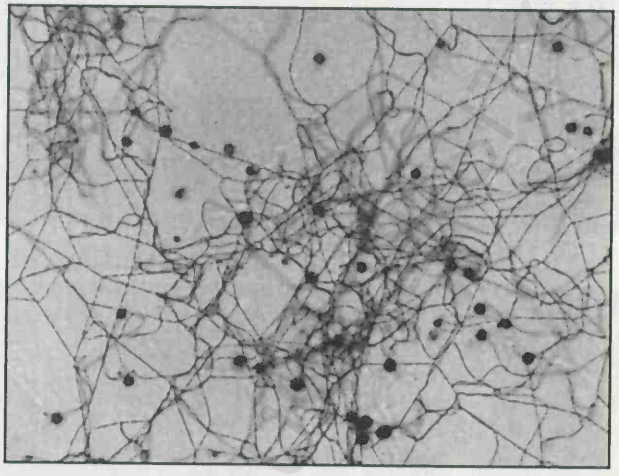


Fig. 117 – Miceliu de actinomicet

Mitocondriile lipsesc dar membrana citoplasmatică prezintă mezozomi lamelari, veziculari sau tubulari. De asemenea, lipseşte reticulul endoplasmatic cu poliribozomi.

Peretele celular este de tip bacterian. Din punct de vedere tinctorial actinomicetele sunt Gram-pozitive.

Fiziologia actinomicetelor

Pe mediile de cultură solide, miceliul actinomicetelor formează colonii dense, cartilaginoase sau pieloase, foarte aderente de substrat (Fig. 118). La cele mai multe specii, pe acest miceliu de substrat se formează un miceliu aerian, pe hifele căruia se găsesc sporoforii cu spori.

Sporoforii, prin formă şi structură, sunt caracteristici diferitelor specii şi au valoare taxonomică. La unele specii sunt spiralaţi, cu spire lungi sau scurte, laxe sau comprimate, închise sau deschise, la altele sunt lungi, uşor încurbaţi sau drepţi (Fig. 119).

Sporii la actinomicete sunt sferici, ovali, alungiţi sau cilindrici cu extremităţile retezate. Pe suprafaţa lor sporii prezintă diferite ornamentaţii: ţepi, butoni, negi, peri sau sunt netezi (Fig. 120).

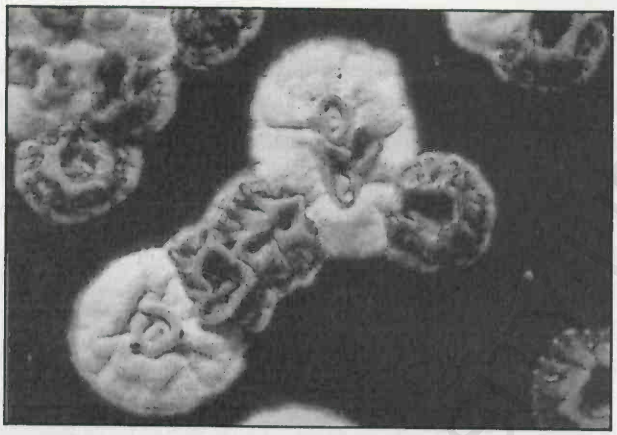


Fig. 118 – Colonii de *Streptomyces ceolicolor* (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

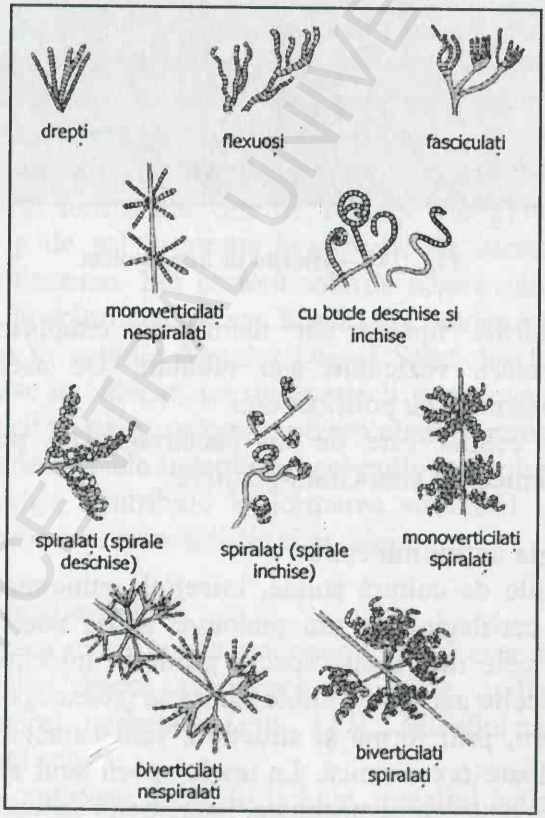


Fig. 119 – Tipuri de sporofori la actinomicete

Sporii se formează prin fragmentare sau segmentare. În primul caz, citoplasma sporoforului se divide în fragmente care se condensează

treptat, se rotunjesc, şi acoperindu-se cu o membrană proprie, se transformă în spori. Aceştia vor fi puşi în libertate prin ruperea membranei sporoforului. În cazul segmentării, în sporofori apar mai întâi mai multe celule, care la maturitate se separă, se rotunjesc şi devin spori.

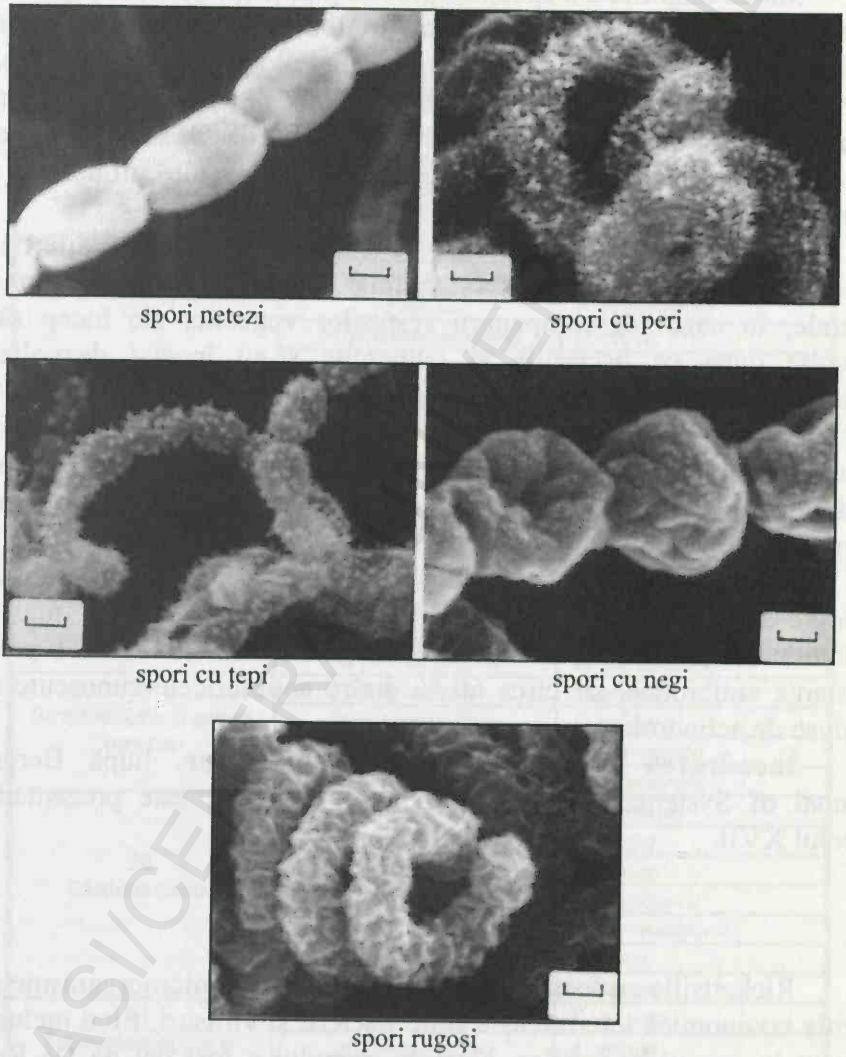


Fig. 120 – Aspecte ale suprafeţei sporilor la actinomicete
(după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 4, 1989)

Prin germinare, sporii dau naştere unui nou miceliu. Mai întâi pe spor apare un mugure care se alungeşte treptat, formând un filament. Acesta se ramifică, continuă să crească, iar ramificaţiile se împletesc, constituind miceliul de substrat şi implicit o nouă colonie.

Spre deosebire de bacterii, actinomicetele cresc sub formă de colonii şi în mediile lichide. În astfel de medii, cultivate în profunzime, cele mai multe specii nu mai formează spori. În aceste condiţii, miceliul se fragmentează în celule mici, bacilare sau cocoide.

Marea majoritate a speciilor produc pigmenţi. Speciile pigmentate au miceliul aerian colorat în: galben, portocaliu, roşu, violet, albastru, verde, cenuşiu. Uneori, numai coloniile sunt colorate (*specii cromofore*), alteori, pigmentul difuzează în substrat (*specii cromopare*). În unele cazuri, miceliul aerian are o culoare iar miceliul de substrat altă culoare (*specii paracromofore*). Pigmentogeneza este mult influenţată de compoziţia mediului de cultură şi condiţiile de dezvoltare.

Actinomicetele se dezvoltă pe substraturi organice diferite pe care, în general, bacteriile şi ciupercile nu se dezvoltă. În condiţii naturale, în cazul descompunerii resturilor vegetale, ele încep să se dezvolte după ce bacteriile şi ciupercile şi-au încetat dezvoltarea, respectiv atunci când toate substanţele uşor metabolizabile au fost descompuse şi asimilate. Caracterul lor omnivor şi exigenţele nutritive relativ reduse explică larga lor răspândire în natură. Unele specii sunt chitinolitice, altele descompun lignina, celuloza, taninurile, cauciucul, hidrocarburile, fenolii, parafinele etc.

Pe mediile de cultură artificiale, actinomicetele produc substanţe biologic active: vitamine (B_1, B_2, B_6, B_{12} etc), enzime, dar mai ales antibiotice. Peste 50 % dintre actinomicetele izolate din sol produc substanţe antibiotice, iar circa 60 % dintre antibioticele cunoscute sunt produse de actinomicete.

Încadrarea taxonomică a actinomicetelor, după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 4, 1989, este prezentată în Tabelul XVII.

8.4. RICKETTSIILE

Rickettsiile au fost considerate multă vreme microorganisme cu o poziţie taxonomică intermediară între bacterii şi virusuri, fiind incluse în prezent în grupul bacteriilor. Numele grupului a fost dat de Da Rocha Lima (1916) în onoarea cercetătorului american H. Ricketts care le-a descoperit (1909), studiind febra pătată a Munţilor Stâncoşi.

Morfologic, rickettsiile se prezintă sub formă de coci sau bacili, de dimensiuni inferioare bacteriilor obişnuite (300-600 μm) – Fig. 121. Celula lor conţine ambele tipuri de acizi nucleici, ca şi bacteriile adevărate.

Au un echipament enzimatic asemănător în mare măsură cu cel al celulelor bacteriene. Peretele lor celular este rigid, mureinic şi poate fi lizat de lizozim. Sunt imobile, nesporulate, nu se colorează prin metoda Gram, ci numai prin coloraţii speciale. Sunt sensibile la antibiotice.

Tabel XVII – Încadrarea taxonomică a actinomicetelor

Secţiunea	Genul	Specia
26 Actinomicete nocardioforme	*Nocardia*	*N. asteroides*
	Rhodococcus	*R. rhodochrous*
	Nocardioides	*N. albus*
	Pseudonocardia	*P. thermophila*
	Oerskovia	*O. turbata*
	Saccharopolyspora	*S. hirsuta*
	Faenia	*F. rectivirgula*
	Promicromonospora	*P. citrea*
	Intrasporangium	*I. calvum*
	Actinopolyspora	*A. halophila*
	Saccharomonospora	*S. viridis*
27 Actinomicete cu sporangii multiloculare	*Geodermatophilus*	*G. obscurus*
	Dermatophilus	*D. congolensis*
	Frankia	*F. alni*
28 Actinoplane	*Actinoplanes*	*A. philippinensis*
	Ampullariella	*A. regularis*
	Pilimelia	*P. terevasa*
	Dactylosporangium	*D. aurantiacum*
	Micromonospora	*M. carbonacea*
29 Streptomicete şi genuri înrudite	*Streptomyces*	*S. griseus*
	Streptoverticillum	*S. baldaccii*
	Kineosporia	*K. aurantiaca*
	Sporichthya	*S. polymorpha*
30 Maduromicete	*Actinomadura*	*A. madurae*
	Microbispora	*M. rosea*
	Microtetraspora	*M glauca*
	Planobispora	*P. longispora*
	Planomonospora	*P. parontospora*
	Spirillospora	*S. albida*
	Streptosporangium	*S. roseum*
31 Termomonospore şi genuri înrudite	*Thermomonospora*	*T. curvata*
	Actinosynnema	*A. mirum*
	Nocardiopsis	*N. dassonvillei*
	Streptoalloteichus	*S. hindustanus*
32 Termoactinomicete	*Thermoactinomyces*	*T. vulgaris*
33 Alte genuri	*Glycomyces*	*G. harbinensis*
	Kibdelosporangium	*K. aridum*
	Kitasatosporia	*K. setae*
	Saccharothrix	*S. australiensis*
	Pasteuria	*P. ramosa*

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

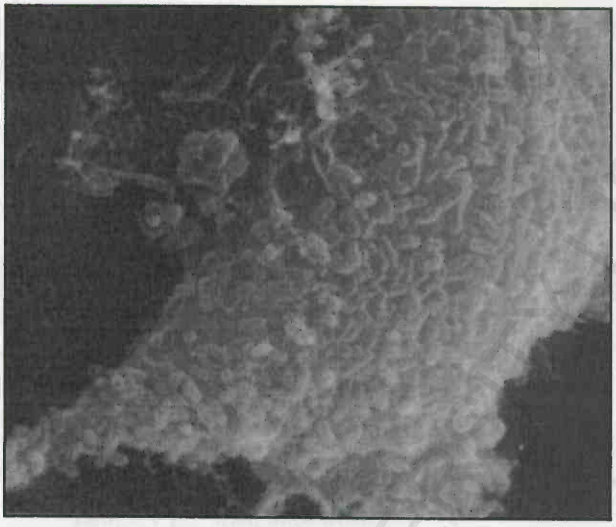


Fig. 121 – Aspectul electronomicroscopic al celulelor de *Rochalimea quintana*: imagine electronomicroscopică (după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 1, 1984)

Rickettsiile sunt parazite intracelular şi nu se pot reproduce în afara celulelor animale. În celulele parazite se reproduc prin sciziparitate transversală. Pot fi cultivate prin inoculare pe ou de găină embrionat sau la animale sensibile. Multe specii sunt patogene pentru om şi animale. Bolile produse se numesc rickettsioze sau febre exantematice. Rezervorul natural al rickettsiilor îl constituie artropodele hematofage (păduchii, puricii, căpuşele etc.), care joacă şi rolul de vectori în transmiterea speciilor patogene la om sau animale. Aria de răspândire a unor rickettsioze este condiţionată de aria de răspândire a vectorilor respectivi. Între rickettsiile patogene şi artropodele vectoare se pot stabili diferite tipuri de relaţii, care depind de gradul lor de adaptare, determinat filogenetic. În unele cazuri, infecţia insectei poate fi letală (*Rickettsia prowazekii* – la păduche) sau perfect tolerată (*Rickettsia mooseri* – la purece). Alteori, adaptarea rickettsiilor este atât de perfectă încât se găsesc ca simbionţi intracelulari la unele specii de artropode. Dintre speciile mai importante şi bolile produse amintim:

Rickettsia prowazekii – tifosul exantematic epidemic;
Rickettsia mooseri – tifosul murin;
Rickettsia rickettsii – febrele pătate;
Rickettsia conorii – febra butunoasă;
Rickettsia quintana – febra de tranşee;
Rickettsia tsutsugamushi – febra tsutsugamushi;

Coxiella burnetii – febra Q.

După Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1, 1984, rickettsiile prezintă următoarea încadrare taxonomică (Tabel XVIII).

Tabel XVIII – Încadrarea taxonomică a rickettsiilor

Secțiunea	Ordinul	Familia	Tribul	*Genul*	Specia
9 Ricketsii și Chlamidii	I. *Rickettsiales*	I. *Rickettsiaceae*	I. *Rickettsieae*	*I. Rickettsia*	*R. prowazekii*
				II. Rochalimaea	*R. quintana*
				III. Coxiella	*C. burnetii*
			II. *Ehrlichieae*	*IV. Ehrlichia*	*E. canis*
				V. Cowdria	*C. ruminantium*
				VI. Neorickettsia	*N. helminthoeca*
			III. *Wolbachieae*	*VII. Wolbachia*	*W. pipientis*
				VIII. Rickettsiela	*R. popilliae*
		II. *Bartonellaceae*		*I. Bartonella*	*B. baciliformis*
				II. Grahamella	*G. talpae*
		III. *Anaplasmataceae*		*I. Anaplasma*	*A. marginale*
				II. Aegyptianella	*A. pullorum*
				III. Haemobartonella	*H. muris*
				IV. Eperythrozoon	*E. coccoides*

8.5. CHLAMIDIILE

Chlamidiile reprezintă un grup de bacterii asemănătoare rickettsiilor dar parazite şi patogene numai la vertebrate, în special la păsări, mamifere şi om. Spre deosebire de rickettsii, ele nu se transmit prin vectori din grupul nevertebratelor, ci direct.

Din punct de vedere morfologic celulele chlamidiilor sunt mai mult sau mai puțin sferice şi mai mici comparativ cu cele ale rickettsiilor (Fig. 122). Diametrul lor variază între 0,2 – 0,7 μm.

Din punct de vedere structural celula prezintă ambii acizi nucleici. Raportul ARN/ADN este aproape egal cu 1. Greutatea moleculară a ADN-ului este de 4 x 10^8 Da, aproape dublă față de cea a virusului vaccinal şi de zece ori mai mică decât la *Escherichia coli.*

Peretele celular are o compoziție identică cu cea de la bacterii: conține acid muramic şi D-alanină.

Chlamidiile deşi posedă un echipament enzimatic, acesta este incapabil să realizeze un metabolism energetic propriu.

BCU CENTRALA UNIVERSITARĂ LIBRARY

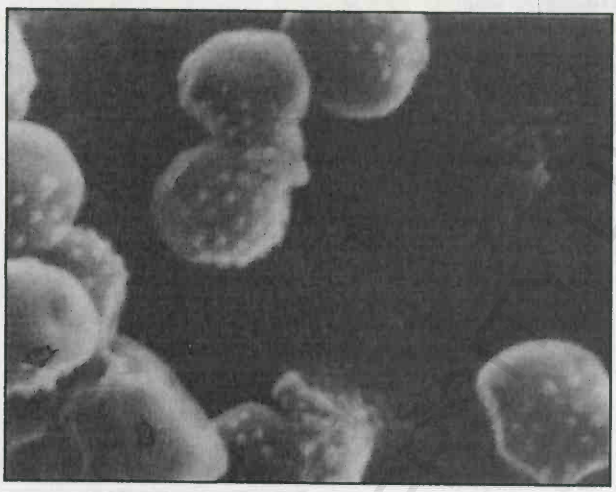


Fig. 122 – *Chlamidia psittaci*: imagine electronomicroscopică a corpilor elementari (după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 1, 1984)

Din cauza dimensiunilor foarte mici a fost greu să se stabilească cu certitudine modul lor de dezvoltare în celula gazdă. Au existat unele controverse în ceea ce priveşte modul de multiplicare (sciziparitate, înmugurire). Cercetări electronomicroscopice recente au demonstrat existenţa diviziunii directe simple, iar la genul *Chlamidia* s-a descris un ciclu de multiplicare (Fig. 123).

În ciclul de multiplicare de la genul *Chlamidia* se pot observa două tipuri celulare: corpii elementari şi corpii reticulaţi.

Corpii elementari reprezintă formele extracelulare, stabile, cu viaţă latentă, care după ce intră în citoplasma celulei gazdă dau naştere unor structuri vegetative numite corpi reticulaţi, din care se formează noi corpi elementari, capabili să reiniţieze ciclul de infecţie.

Corpii elementari au forma unor bacterii cocoidale, de dimensiuni mici, cu diametrul de 0,2-1,5 μm, delimitate de un perete celular similar ca structură şi compoziţie chimică cu cel al bacteriilor Gram-negative şi de membrana celulară. Conţin citoplasmă şi ribozomi, iar în zona centrală un nucleoid compact.

Corpii reticulaţi reprezintă forma vegetativă intracelulară, neinfecţioasă a chlamidiilor. Au un diametru de 1,0-1,6 μm, cu un perete celular foarte subţire, o membrană celulară, citoplasmă, numeroşi ribozomi şi un genom sub forma unei reţele fibrilare (de aici şi numele de corpi reticulaţi). Aceştia sunt situaţi în vacuolele citoplasmatice, unde se multiplică prin diviziune binară repetată, rezultând noi corpi elementari,

care se vor elibera după dezintegrarea celulei gazdă şi vor infecta alte celule.

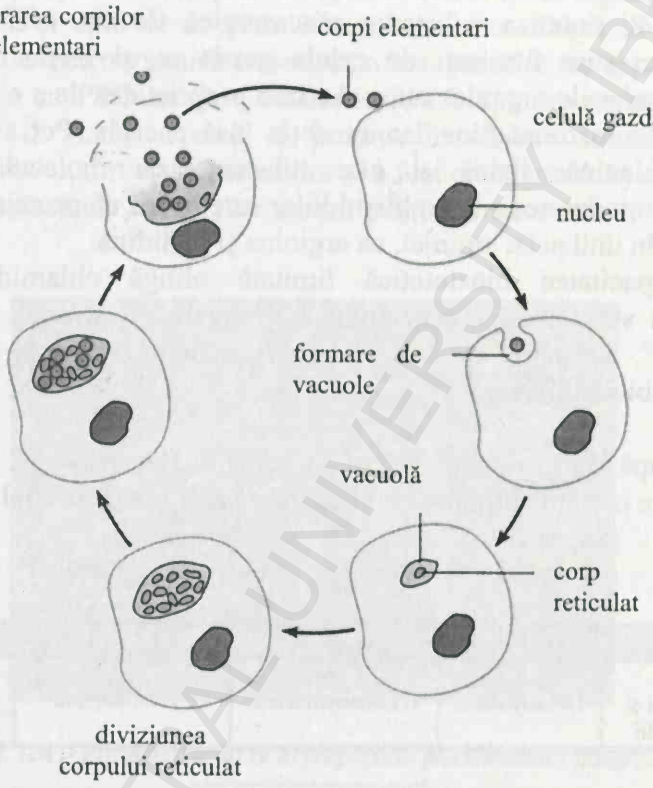


Fig. 123 – Ciclul de multiplicare la genul *Chlamidia*

Durata unei generaţii este de 2-3 ore. Infecţia celulei gazdă se produce prin fagocitoză. Fiind parazite obligate, ele utilizează metaboliţii celulei gazdă, intră în competiţie cu aceasta pentru aminoacizi şi sintetizează metaboliţi toxici, care conduc la ruperea membranei celulare şi eliberarea corpilor elementari patogeni. În lipsa aminoacizilor esenţiali în cantitate suficientă, chlamidiile trec în stare de latenţă intracelulară.

Multă vreme chlamidiile au fost considerate virusuri de dimensiuni mai mari. În prezent, acest grup de bacterii pune probleme importante nu numai ca agenţi etiologici ai unor boli, ci şi probleme legate de evoluţie. Ele sunt bacterii pentru că au perete celular de tip bacterian şi sunt sensibile ca şi acestea la penicilină şi alte antibiotice. În urma tratamentului cu penicilină a infecţiilor produse de chlamidii are loc o modificarea acestora în sferoplaşti, rezistenţi la variaţiile de presiune osmotică, deoarece celulele gazdă îi protejează. Au fost izolaţi şi mutanţi

rezistenţi la penicilină. Prezenţa D-alaninei în peretele celular face ca ele să fie sensibile şi la cicloserină, analog structural al D-alaninei.

Capacitatea biosintetică a chlamidiilor este inferioară rickettsiilor. Ele nu pot sintetiza substanţe macroergice de tip ATP. Compuşii macroergici sunt furnizaţi de celula gazdă ca şi unele coenzime şi anumite molecule organice mari. Au însă proprietatea de a oxida glucoza pe calea pentozofosfaţilor dar nu obţin însă energie. Pot sintetiza acid folic, D-alanină, lizină şi alte substanţe cu moleculă mică. O particularitate interesantă a chlamidiilor este aceea că proteinele lor sunt deficitare în unii acizi aminici, ca arginina şi histidina.

Capacitatea biosintetică limitată obligă chlamidiile la un parazitism strict intracelular, fiind considerate, în special, ca „paraziţi energetici". Se pare că sunt microorganismele cu cele mai simple capacităţi biochimice.

După Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1,1984, chlamidiile prezintă următoarea încadrare taxonomică (Tabel XIX).

Tabel XIX– Încadrarea taxonomică a chlamidiilor

Secţiunea	Ordinul	Familia	Genul	Specia
9 Rickettsii şi Chlamidii	II. *Chlamydiales*	I. *Chlamydiaceae*	I. *Chlamydia*	*C. trachomatis*
				C. psittaci

Chlamydia trachomatis produce trachoma la om, boală gravă a corneei şi conjuctivei.

Chlamydia psittaci produce ornitoza şi psitacoza la păsări, pneumonia şi bronhopneumonia la om.

8.6. MICOPLASMELE

Micoplasmele sunt bacterii lipsite de perete celular, considerate ca cele mai mici entităţi celulare, înzestrate cu activitate biochimică, funcţională şi de reproducere independentă.

Reprezentanţii acestui grup sunt larg răspândiţi în natură (sol, ape, resturi vegetale) şi au fost izolaţi frecvent de la animalele homeoterme. Unele specii sunt patogene pentru bovine şi păsări, iar o specie este implicată în etiologia pneumoniei atipice umane. S-au descris şi specii patogene pentru plante.

Descoperirea micoplasmelor este atribuită lui L. Pasteur în legătură cu boala pleuropneumonia bovinelor. Agentul acestei infecții, desemnat inițial prin abreviația PPO (pleuro-pneumonia organism), a fost apoi observat și cultivat de către Nocard și Roux. După 1941 au fost descrise și alte microorganisme asemănătoare, parazite sau saprofite, care prin analogie cu PPO au fost denumite PPLO (pleuro-pneumonia like organisms). În 1955 Freudt a propus încadrarea lor în ordinul *Mycoplasmatales*, din clasa bacteriilor și a fost creat genul *Mycoplasma*.

Micoplasmele se caracterizează printr-un accentuat polimorfism (Fig. 124).

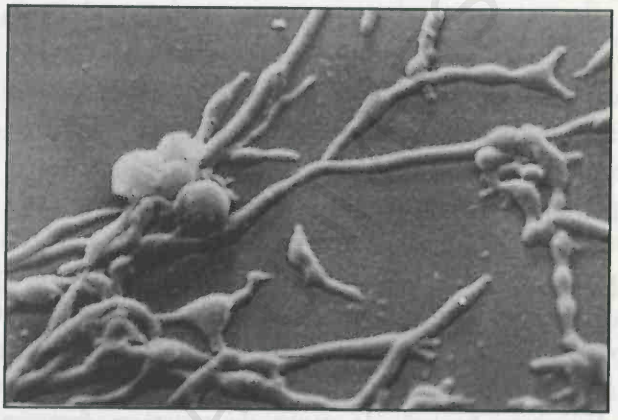


Fig. 124 – Polimorfismul la *Mycoplasma pneumoniae*: imagine electronomicroscopică
(după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 1, 1984)

Fiind lipsite de perete celular, ele se aseamănă cu protoplaștii bacterieni, dar spre deosebire de aceștia au o rezistență mai mare la variațiile de presiune osmotică. Această rezistență ar putea fi atribuită sterolilor din membrana citoplasmatică, micoplasmele fiind singurele procariote care conțin steroli. Lipsa peretelui celular și elasticitatea membranelor citoplasmatice sunt cauzele accentuatului lor polimorfism. Astfel, chiar în aceeași cultură, *Mycoplasma gallisepticum* se poate prezenta în forme sferice, hexagonale, elicoidale, filamentoase sau ramificate, cu dimensiuni variind de la 0,1 μm –0,25 μm.

Formele cocoide (cu dimensiuni foarte reduse) pot străbate filtrele impermeabile pentru bacterii, asemănându-se din acest punct de vedere cu virusurile. Ele conțin ambii acizi nucleici și reprezintă cele mai mici unități capabile de dezvoltare și reproducere independentă pe medii de

cultură artificiale. Ele poartă denumirea de *unităţi minime de reproducere* sau corpi elementari.

Cu toate că molecula lor de ADN este lungă de numai 260 μm ea conţine suficiente informaţii genetice pentru codificarea tuturor proteine necesare unei existenţe independente.

Citoplasma lor conţine ribozomi izolaţi sau grupaţi în formaţiuni analoage funcţional polizomilor.

Cultivarea micoplasmelor se poate face pe medii adiţionate cu ser sangvin care le asigură acizii graşi nesaturaţi şi sterolii necesari sintezei membranei citoplasmatice, precum şi o serie de factori de creştere.

Pe medii de cultură solide, micoplasmele formează colonii mici, cu diametrul de 0,5 mm, prezentând centrul dens, de culoare închisă şi zonele periferice clare, cu o structură granulară fină.

Dezvoltarea micoplasmelor nu este oprită de penicilină sau alte antibiotice care inhibă sinteza peretelui celular. Mediile cu astfel de antibiotice se folosesc pentru izolarea micoplasmelor.

Micoplasmele prezintă un ciclu de reproducere caracteristic. Acesta începe de la unitatea minimă de reproducere, care după un număr succesiv de replicări ale ADN, se măreşte, devenind sferică-globuloasă sau filamentoasă. Fiecare unitatea minimă de reproducere se înconjoară apoi cu citoplasmă şi membrană proprie, astfel încât în interiorul formei globuloase sau filamentoase apar mai multe zone granulare care se pot separa, prin diviziune binară, de masa de creştere, formând noi unităţi minime de reproducere apte să reiniţieze ciclul (Fig. 125).

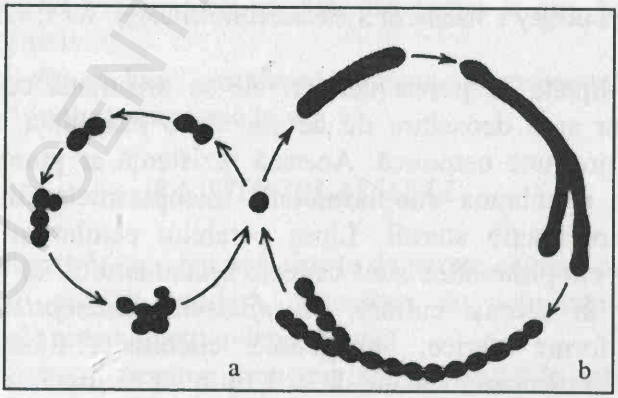


Fig. 125 – Reprezentarea schematică a modului de reproducere la micoplasme:
a - diviziune binară; b - fragmentarea filamentelor în formaţiuni cocoidale
(după Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 1, 1984)

După Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1, 1984, micoplasmele prezintă următoarea încadrare taxonomică (Tabel XX).

Tabel XX – Încadrarea taxonomică a micoplasmelor

Secţiunea	Diviziunea	Clasa	Ordinul	Familia	Genul	Specia
10 Micoplasme	*Tenericutes*	I. *Mollicutes*	I. *Mycoplasmatales*	I. *Mycoplasmataceae*	I. *Mycoplasma*	*M. pneumoniae*
					II. *Ureaplasma*	*U. urealyticum*
				II. *Acholeplasmataceae*	I. *Acholeplasma*	*A. laidlawi*
				III. *Spiroplasmataceae*	I. *Spiroplasma*	*S. citri*

Dintre speciile mai importante amintim:

Mycoplasma pneumoniae – agentul etiologic al pneumoniei atipice, primare, umane;

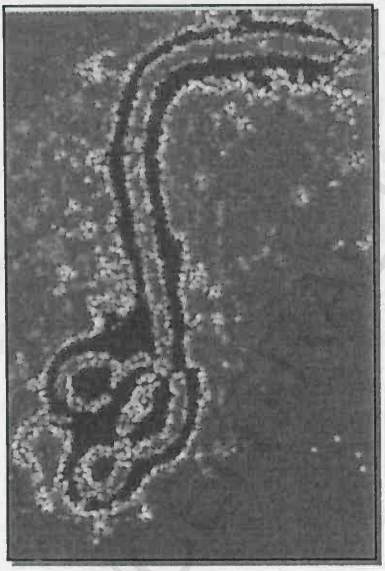
Mycoplasma mycoides – subspecia *mycoides* - agentul pleuropneumoniei bovinelor;

Mycoplasma gallisepticum – patogenă pentru animale.

BCU IAŞI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

9

VIRUSURI. VIROIZI. PRIONI.



Virusul Ebola

9.1. Caracterele generale ale virusurilor
9.2. Clasificarea virusurilor
9.3. Structura virusurilor
9.4. Morfologia virusurilor
9.5. Multiplicarea virusurilor
9.6. Bacteriofagii
9.7. Multiplicarea virusurilor animalelor
9.8. Virusurile plantelor
9.9. Viroizii şi prionii

BCU IASI UNIVERSITY LIBRARY

9.1. CARACTERELE GENERALE ALE VIRUSURILOR

Definiția virusului dată în 1959 de către laureatul premiului Nobel A. Lwoff *„un virus este un virus"* reflectă o realitate evidentă: unicitatea virusurilor în lumea vie. După ce în 1935 Stanley obține forma cristalizată a virusului mozaicului tutunului, problema apartenenței virusurilor la lumea vie a fost intens disputată în lumea științifică, divergențele de opinie, pornind chiar de la definiția dată vieții. Astfel, în mod obișnuit definim viața ca ansamblul proceselor complexe datorate acțiunii proteinelor codificate de acizii nucleici aflați în activitate permanentă în celulele vii. Deoarece virusurile sunt inerte în afara celulelor pe care le parazitează, conform definiției de mai sus, ele nu pot fi considerate organisme vii. Cu toate acestea însă, odată intrat în celula gazdă, acidul nucleic viral devine activ, declanșând multiplicarea virusului. Din punct de vedere clinic, virusurile pot fi considerate organisme vii pentru că, în interiorul celulelor gazdă se pot multiplica, pot provoca infecții și boli la fel ca bacteriile patogene, fungii, protozoarele.

Întrebarea „în ce măsură virusurile aparțin sau nu lumii vii?" rămâne deocamdată fără răspuns. Luând în considerare poziția lor specială în lumea vie este mai bine să ne referim la virusuri ca particule infecțioase și nu ca organisme, ca active sau inactive și nu ca vii sau neanimate.

Virusurile au fost deosebite de alte categorii de agenți infecțioși prin dimensiunile lor foarte mici, submicronice, prin filtrabilitate și prin parazitismul intracelular obligatoriu. Ulterior însă s-a demonstrat că aceste proprietăți sunt caracteristice și pentru o serie de bacterii foarte mici, așa cum sunt rickettsiile și chlamidiile. Din acest motiv, caracterele specifice virusurilor sunt legate de organizarea structurală foarte simplă și de mecanismele de multiplicare.

- **Virusurile** (lat. *virus* = otravă) **sunt entități infecțioase acelulare, reprezentate de complexe macromoleculare alcătuite din subunități moleculare repetitive.**
- **Virusurile prezintă constituenți esențiali**: genomul viral și capsida (învelișul proteic) și **constituenți accesorii**: peplosul (anvelopa virală), spiculele sau glicoproteinele implantate în învelișul extern. Genomul viral poate fi reprezentat de **singur tip de acid nucleic**: ADN sau ARN, niciodată ambii acizi.
- **Stările de existență posibile ale unui virus** sunt:

BCU „M. EMINESCU" IAȘI

- **virionul** – particula virală matură infecțioasă, extracelulară;
- **virusul vegetativ** – genomul viral liber în celulă, care se poate replica;
- **provirusul** – genomul viral integrat în genomul celulei gazdă.

➢ **Virusurile pot infecta diverse tipuri de organisme.** Astfel, există virusuri specifice animalelor (vertebrate și nevertebrate), plantelor, fungilor și bacteriilor. În cele mai multe situații, virusurile pot infecta anumite tipuri de țesuturi și celule din organismul gazdă. Putem vorbi în aceste condiții de o specificitate celulară, de țesut, organ și specie. Specificitatea virusurilor pentru anumite tipuri de celule infectate este determinată în primul rând de posibilitatea de atașare la respectivele celule, dar și de prezența în interiorul acestora a factorilor celulari necesari multiplicării virale.

Atât ca structură cât și ca ciclu de existență, virusurile diferă fundamental de microorganisme, în special de bacterii (Tabel XXI).

Tabel XXI – Comparații între bacterii și virusuri
(după Tortora, Funke, Case, 2002)

CARACTERE	BACTERII		VIRUSURI
	Bacterii tipice	*Rickettsii/Chlamidii*	
Parazitism intracelular obligatoriu	nu	da	da
Membrană plasmatică	da	da	nu
Diviziune binară	da	da	nu
Trec prin filtre bacteriologice	nu	da/nu	da
Prezintă simultan ADN și ARN	da	da	nu
Generare metabolică de ATP	da	da/nu	nu
Ribozomi	da	da	nu
Sensibilitate la antibiotice	da	da	nu
Sensibilitate la interferón	nu	nu	da

➢ **Virusurile sunt lipsite de un echipament enzimatic propriu** pentru biosinteză și catabolism, fiind absentă capacitatea de sinteză independentă a constituenților proprii și deci capacitatea de creștere. Uneori sunt prezente enzime cu rol în pătrunderea

(neuraminidaze, lizozim), replicarea (reverstranscriptaza) şi eliberarea virusului din celula gazdă.

- **Virusurile prezintă un parazitism absolut**, constant şi obligat, în sensul că pătrunse în celulele gazdă modifică metabolismul normal al acestora, deturnându-l şi reorientând sistemele enzimatice spre sinteza constituenţilor virali, pentru care utilizează precursorii, compuşii macroergici, ribozomii şi ARN-ul transportor ai celulelor gazdă. Într-o celulă normală, infecţia virală aduce o informaţie nouă, *informaţia genetică virală*. Cele două informaţii pot coexista în mod normal numai în situaţii speciale (starea de provirus), situaţii în care informaţia genetică virală integrată în structura cromozomului se comportă la fel ca genele normale. În mod obişnuit nu pot exista cele două tipuri de informaţie genetică, astfel încât informaţia genetică virală fie este eliminată, fie perturbă celula gazdă, care începe să sintetizeze constituenţii virali. Această relaţie este foarte subtil controlată pentru că, dacă virusul omoară celula gazdă, nu mai are loc replicarea acestuia.
- În mod obişnuit, **virusurile nu pot fi cultivate pe medii de cultură artificiale, ci numai în culturi de celule.**

9.1.1. Dimensiunile virusurilor

Virusurile pot străbate filtrele bacteriologice (impermeabile pentru bacterii), putând fi separate numai prin ultrafiltrare; sedimentează numai prin ultracentrifugare. Din aceste motive, dimensiunile virusurilor pot fi determinate cel mai precis numai cu ajutorul microscopiei electronice. Deşi majoritatea sunt mai mici decât bacteriile, unele din cele mai mari virusuri (de ex. virusul vaccinal) sunt apropiate ca dimensiuni de unele bacterii foarte mici (cum ar fi micoplasmele, rickettsiile şi chlamidiile) – Fig. 126.

Compararea cu dimensiunile celulelor gazdă este foarte sugestivă. De exemplu, mai mult de 2000 bacteriofagi (virusuri care parazitează bacteriile) corespund unei singure celule bacteriene iar peste 50.000.000 poliovirusuri (ex.*virusul poliomielitic*) ar corespunde unei celule umane de dimensiuni medii.

De regulă, dimensiunile virusurilor variază între 20-1000 nm (1 nm=10^{-9} mm) lungime şi 20-300 nm lăţime, ceea ce ar corespunde spectrului de dimensiuni care se întinde de la cea mai mare moleculă de proteină până la cea mai mică celulă. Dimensiunea virusurilor animalelor

variază de la parvovirusuri (cele mai mici ca dimensiuni - aproximativ 20 nm) la poxvirusuri, cu dimensiuni de până la 450 nm lungime.

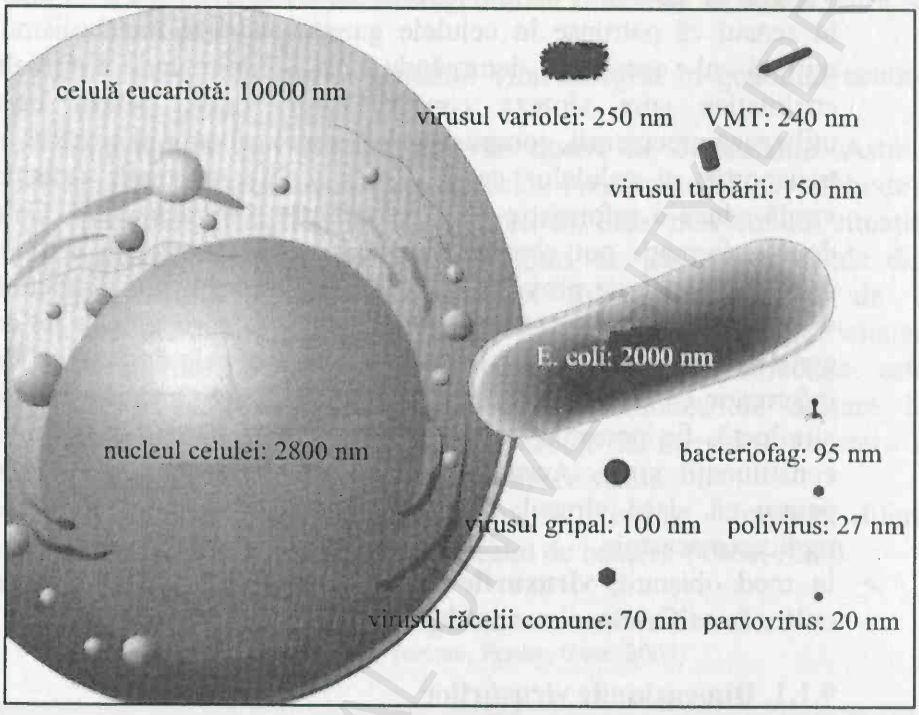


Fig. 126 – Comparaţie între dimensiunile unor virusuri, celulele procariote şi eucariote

9.2. CLASIFICAREA VIRUSURILOR

Cel mai vechi sistem de clasificare al virusurilor se baza pe simptomatologia bolilor produse de acestea. Deşi convenabil din punct de vedere practic, acest sistem nu este însă corect ştiinţific pentru că acelaşi virus poate provoca mai multe boli, în funcţie de tipul ţesutului infectat. Începând cu anul 1966, odată cu înfiinţarea Comitetului Internaţional pentru Taxonomia Virusurilor (I.C.T.V.), virusurile au fost clasificate în ordine, familii şi genuri, utilizându-se următoarele criterii taxonomice:

- **tipul acidului nucleic**: ribovirusuri (virusuri cu ARN) şi dezoxiribovirusuri (virusuri cu ADN);
- **particularităţile fizico-chimice ale genomului**: genom mono- sau dublucatenar, liniar, circular, segmentar;

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- **morfologia**: simetria capsidei (helicală, icosaedrică, binară), prezența sau absența anvelopei;
- **strategia de replicare**;
- **structura şi proprietățile antigenice**;
- **tropismul**:

- afinitatea virusurilor pentru anumite gazde naturale (genotropism): virusuri ale omului, animalelor, insectelor, plantelor, bacteriofagi şi actinofagi;

- afinitatea virusurilor pentru organe țintă (organotropism), țesuturi (histotropism), celule (citotropism):
  - virusuri respiratorii: *virusul gripal*;
  - virusuri dermotrope (cu afinitate pentru piele şi mucoase): *poxvirus*;
  - virusuri neurotrope (cu afinitate pentru sistemul nervos central): *virusul turbării* şi *poliomielitei*;
  - virusuri organotrope (cu afinitate pentru organele interne): *virusul febrei galbene*;
  - virusuri hematotrope (transmise prin sânge):*virusul hepatitei B*;
  - virusuri dermoneurotrope (cu afinitate pentru piele şi sistemul nervos central): *herpes virus*;
  - virusuri pantrope (cu afinitate pentru celulele sistemului reticuloendotelial).

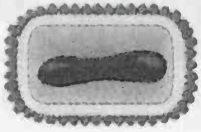
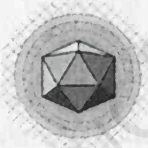
Denumirea ştiințifică a virusurilor utilizează următoarele sufixe:
- *ales* pentru ordine – ex. *Nidovirales*;
- *viridae* pentru familii – ex. *Herpesviridae*;
- *virinae* pentru subfamilii – ex. *Alphaherpesvirinae*;
- *virus* pentru genuri – ex. *Herpesvirus*.

O specie virală cuprinde un grup de virusuri care au aceeaşi informație genetică şi care împart aceeaşi nişă ecologică (G. Tortora, 2002). De regulă, speciile virale sunt desemnate prin caractere descriptive comune, ca de exemplu virusul imunodeficienței umane (HIV), cu subspeciile (dacă este cazul) notate prin numere (HIV-1).

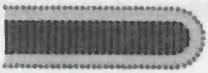
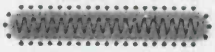
În practică se utilizează şi o serie de denumiri rezultate prin combinații ale unor litere şi cifre (ex. SV40, MS_2 etc.).

În Tabelul XXII este prezentată o clasificare a virusurilor umane de interes medical.

Tabel XXII – Familii de virusuri cu importanţă medicală
(după Tortora, Funke, Case, 2002)

Familia	Genuri importante	Caractere morfologice	Manifestări clinice
Parvoviridae (lat. *parvo-* mic)	*Dependovirus*	ADN monocatenar liniar, fără anvelopă, 18-25 nm	gastroenterite
Adenoviridae (gr. adenos-glandă, referitor la tropismul pentru ţesutul limfoid)	*Mastadenovirus*	ADN dublucatenar liniar, fără anvelopă, 70-90 nm	infecţii respiratorii diverse, tumori la animale
Papovaviridae (papilom, poliom, vacuolant)	*Papillomavirus, Polyomavirus*	ADN dublucatenar circular, fără anvelopă, 40-57 nm	induc tumori la om şi animale
Poxviridae (engl. *pock-* pustulă, ulceraţie) 	*Orthopoxvirus* (virusul variolei), *Parapoxvirus, Molluscipoxvirus*	ADN dublucatenar liniar, cu anvelopă, formă de cărămidă 200-350 nm	variola, boli la animale
Herpesviridae (gr. *herpeton*-animal şerpuitor) 	*Simplexvirus* (HHV-1, HHV-2), *Varicellovirus* (HHV-3), *Cytomegalovirus, Roseolovirus*	ADN dublucatenar liniar, cu anvelopă, 150-200 nm	herpes, encefalite herpetice, varicela, herpes Zoster, mononucleoza infecţioasă, limfomul Burkitt
Hepadnaviridae (virusuri hepatice cu ADN)	*Hepadnavirus* (virusul hepatitei B)	ADN parţial dublu-catenar circular, cu anvelopă, 42 nm	hepatita B, tumori hepatice
Picornaviridae (it. *picco-* mic)	*Enterovirus, Rhinovirus*	ARN monocatenar „+", liniar, fără anvelopă, 28-30 nm	poliomelita, hepatita A, răceli comune

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Familia	Genuri importante	Caractere morfologice	Manifestări clinice
Caliciviridae (lat. *calix*-cupă)	Virusul hepatitei E	ARN monocatenar „+", liniar, fără anvelopă, 35-40 nm	gastroenterite, hepatite
Togaviridae (lat. *toga*-haină, înveliş)	*Alphavirus, Rubivirus* (virusul rubeolei)	ARN monocatenar „+", liniar, cu anvelopă, 60-70 nm	virusuri transmise prin artropode (*Alphavirus*), encefalită ecvină, rubeola
Flaviviridae (lat. *flavus*-galben)	*Flavivirus, Pestivirus,* virusul hepatitei C	ARN monocatenar „+", liniar, cu anvelopă, 40-50 nm	febra galbenă, encefalite
Coronaviridae (lat. *corona*-coroană)	*Coronavirus*	ARN monocatenar „+", liniar, cu anvelopă, 80-160 nm	răceli comune, gastroenterite
Rhabdoviridae (gr. *rhabdos*-baston) 	*Vesiculovirus, Lyssavirus* (virusul turbării)	ARN monocatenar „-" liniar, cu anvelopă, formă de cartuş ,70-180 nm	turbarea, boli la animale
Filoviridae (lat. *filum*-fir) 	*Filovirus*	ARN monocatenar „-" liniar, cu anvelopă, 80-1000 nm	febra hemoragică
Paramyxoviridae (gr. *para*-alături)	*Paramyxovirus* (virusul paragripal), *Morbilivirus* (virusul rujeolei)	ARN monocatenar, „-" liniar, cu anvelopă, 150-300 nm	parotidita epidemică, rujeola, infecţii respiratorii
Deltaviridae	Virusul hepatitei D	ARN monocatenar „-" liniar, cu anvelopă, 32 nm	hepatite
Orthomyxoviridae (gr. *orthos*-drept, *myxo*-mucus)	*Influenzavirus* (virusul gripal A, B, C)	ARN monocatenar „-" liniar, cu anvelopă, 80-200 nm	gripa
Bunyaviridae (Bunyavera-localitate din Uganda)	*Bunyavirus, Hantavirus*	ARN monocatenar „-" liniar, cu anvelopă, 90-120 nm	febre hemoragice, infecţii pulmonare, encefalite

Familia	Genuri importante	Caractere morfologice	Manifestări clinice
Arenaviridae (lat. *arnosus*-nisipos)	*Arenavirus*	ARN monocatenar „- "liniar sau circular, cu anvelopă, încorporează ribozomii celulei gazdă, 50-300 nm	febre hemoragice
Retroviridae (lat. *retro*-înapoi)	*Lentivirus* (HIV), oncovirusuri	ARN monocatenar „+", liniar, cu anvelopă, produc ADN, 100-120 nm	SIDA, virusuri care induc tumori, leucemii la animale
Reoviridae	*Reovirus*	ARN dublucatenar, fără anvelopă, 60-80 nm	gastroenterite la copii, infecții respiratorii

9.3. STRUCTURA VIRUSURILOR

Unitatea de structură şi funcție a virusurilor este **virionul (particula virală)** alcătuit din *genomul viral*, înconjurat de un înveliş proteic numit *capsidă*; cele două elemente structurale formează împreună **nucleocapsida** (Fig. 127).

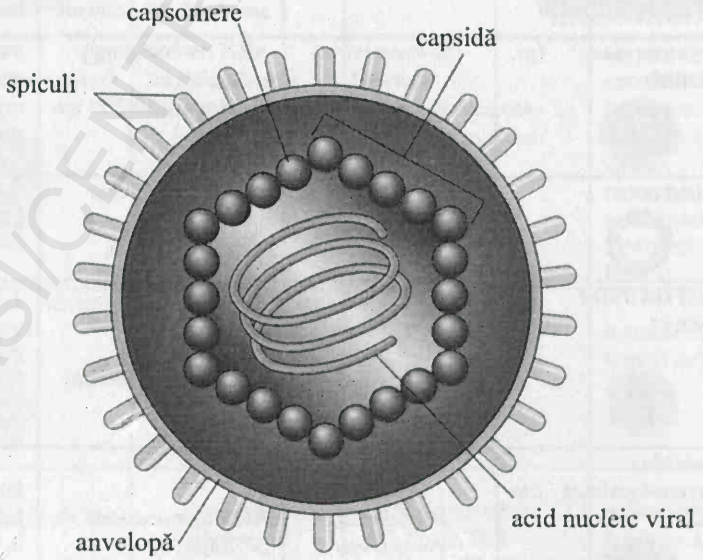


Fig. 127 – Structura unui virus animal cu anvelopă

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Unele virusuri animale au la exteriorul nucleocapsidei un alt înveliş numit **manta, peplos** sau **anvelopă** care poate prezenta spiculi de natură glicoproteinică.

Genomul viral (acidul nucleic viral)

Spre deosebire de celulele procariote şi eucariote, la care ADN-ul este purtătorul informaţiei genetice, ARN-ul jucând roluri auxiliare, virusurile au genomul reprezentat de ADN sau de ARN, niciodată ambele tipuri de acizi nucleici.

Acidul nucleic este localizat în interiorul particulei virale şi poate fi reprezentat de ADN mono- sau dublucatenar (la dezoxiribovirusuri) sau ARN mono- sau dublucatenar (la ribovirusuri). Natura acidului nucleic (ADN sau ARN) condiţionează modul de replicare al virusului în celula gazdă şi sensibilitatea la agenţii antivirali.

Procentul acidului nucleic în raport cu proteinele virale este de aproximativ 1 % la *Influenzavirus* şi de peste 50 % la unii bacteriofagi (virusuri care infectează bacteriile). Cantitatea totală a acidului nucleic viral poate varia de la câteva mii de nucleotide (picornavirusuri) la 250.000 nucleotide (poxvirusuri) în comparaţie cu cromozomul de la *Escherichia coli* care conţine aproximativ 4.000.000 nucleotide. Virusurile mici conţin 3-4 gene (în medie, o genă conţine aproximativ 1000 baze) şi cele mai mari câteva sute, comparativ cu *Escherichia coli* care are aproximativ 2000-4000 gene sau o celulă umană cu aproximativ 100000 gene.

Genomul viral poate avea forme diferite (liniară, circulară, superhelix etc.) şi structuri diferite (moleculă unică sau segmentată, cu segmente izolate sau legate cap la cap prin legături necovalente).

La dezoxiribovirusuri, genomul (ADN) prezintă mai multe tipuri de structuri:

- genom monocatenar liniar;
- genom monocatenar circular;
- genom dublucatenar liniar;
- genom dublucatenar circular închis covalent;
- genom dublucatenar circular închis necovalent.

La ribovirusuri, genomul (ARN) cuprinde mai multe tipuri de structuri din care interesant este cel cu genomul segmentat sau divizat. Virusurile cu genom divizat sunt incluse în două subcategorii:

- virusuri la care capsida înveleşte mai multe segmente de ARN, diferite ca mărime şi structură, care sunt replicate separat;

- virusuri ale plantelor la care segmentele de ARN nu sunt încapsidate împreună, ci individual, în mai multe capside; de exemplu, virusul gripal conține 8 segmente de ARN monocatenar, cu mărime și structură diferite, care sunt replicate separat de celula gazdă, iar reovirusurile conțin 10-12 segmente de ARN dublucatenar.

Existența genomului segmentat aduce o serie de avantaje virusurilor respective. Astfel, virusurile pot dobândi noi caracteristici, determinate de reasortarea segmentelor genomice ale virusurilor diferite. Aceasta face să crească variabilitatea virusurilor, permițând apariția de noi variante care pot învinge bariera imunologică dobândită anterior de organismul gazdă. Cel mai ilustrativ exemplu este cel al virusurilor gripale umane, la care s-a pus în evidență schimbarea uneia sau a mai multor segmente de ARN proprii, cu segmente provenite de la unele tulpini aviare, porcine sau ecvine. Această schimbare reprezintă suportul marii variabilități a tulpinilor de virus gripal, cu posibilitatea determinării epidemiilor masive.

Semnificația biologică a genomului viral

- Conține informația genetică necesară propriei sale replicări și informația prin care celula gazdă asigură arhitectura particulei virale.
- În unele cazuri, genomul viral conține informația necesară eliberării virusului din celulă și poate conține și informația genetică ce asigură potențialul de variabilitate al virusului respectiv.
- Informația virală conține și gene care asigură infecțiozitatea genomului viral și virulența virusului respectiv. S-a demonstrat că atunci când este introdus experimental într-o celulă gazdă numai acidul nucleic singur, determină infecția.

Capsida virală

Este învelișul proteic cu care este înconjurat acidul nucleic viral, reprezentând cea mai mare parte din masa unui virus.

Capsida este alcătuită din subunități numite **capsomere**. Fiecare capsomeră este formată dintr-un singur tip sau câteva tipuri de proteine (**protomere**) și poate fi evidențiată la microscopul electronic sub forma unei particule aproximativ sferice, uneori cu o cavitate centrală.

Modul de aranjare al capsomerelor dă virusului simetria sa caracteristică. Pentru capsidele virale există trei forme de simetrie:

1. ***simetrie helicală*** – în care capsomerele sunt aranjate în formă de spirală (helix), formând un cilindru gol în interior; această formă poate fi rigidă sau flexibilă; exemple de virusuri cu acest tip de simetrie: VMT (virusul mozaicului tutunului, virusul rabiei, influenzavirus, virusul Ebola etc. -Fig. 128;

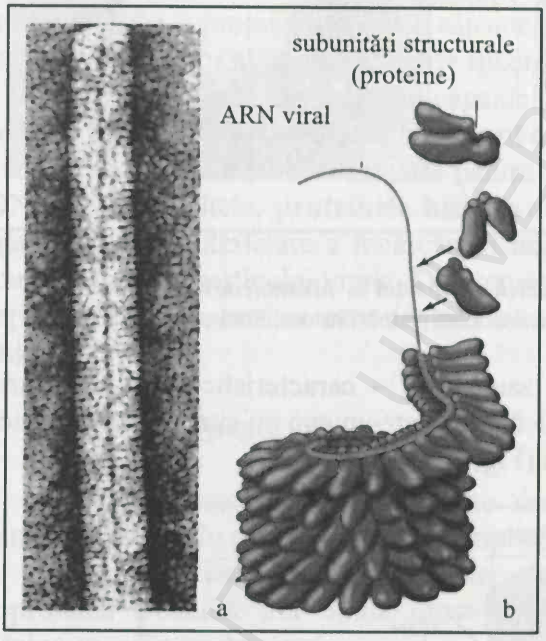


Fig. 128 – Simetria helicală a capsidei la VMT:
a - imagine la microscopul electronic; b - schemă (după Madigan, Martinko, Parker, 2000)

2. ***simetrie icosaedrică*** – în care capsomerele sunt aranjate după o formă geometrică ce corespunde unui icosaedru – Fig. 129 (un poliedru regulat având 20 de fețe triunghiulare-echilaterale, 30 de muchii sau creste și 12 vârfuri).

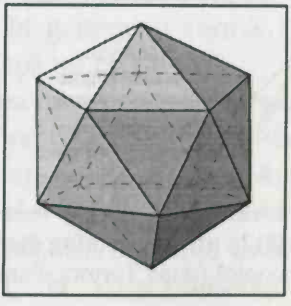


Fig. 129 – Icosaedru

BCU IASI - UNIVERSITY LIBRARY

Exemple de virusuri cu acest tip de simetrie: virusul poliomielitei, herpesvirus, adenovirus (Fig. 130);

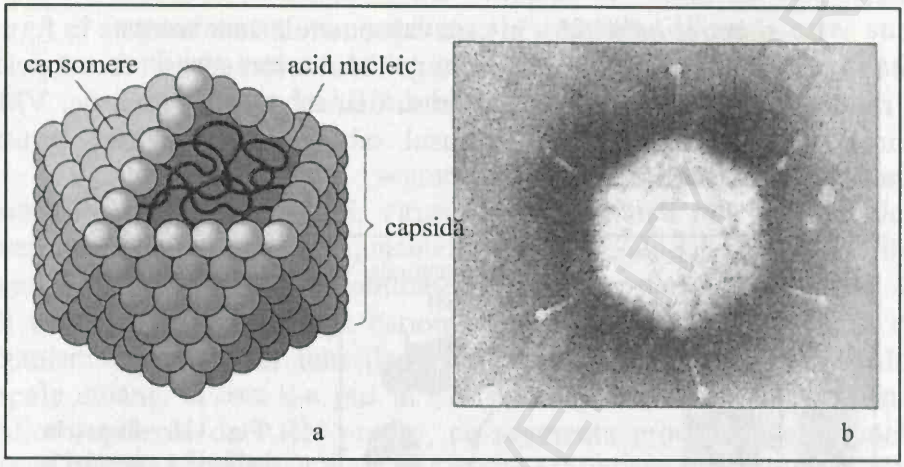


Fig. 130 – Simetrie icosaedrică a capsidei la *Mastadenovirus*: a - schemă; b - imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

3. ***simetrie binară*** sau ***mixtă*** – caracteristică unor virusuri cu structură foarte complexă alcătuite dintr-un cap cu simetrie icosaedrică şi o coadă cu simetrie helicală (Fig. 131);

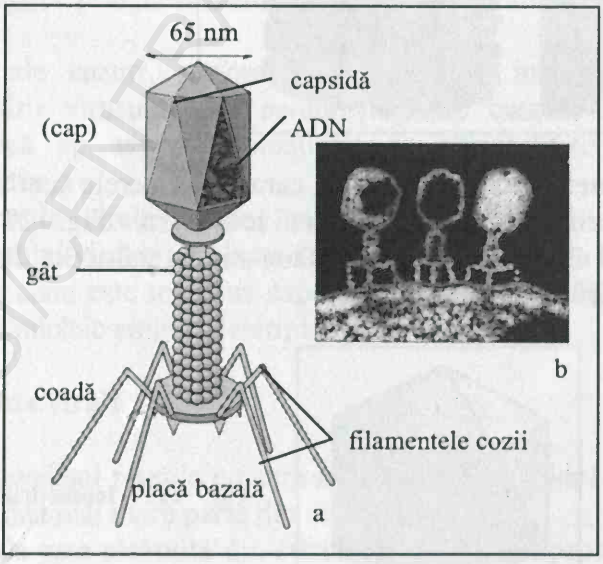


Fig. 131 – Simetria binară (mixtă) la un bacteriofag din seria T:
a - schemă; b - imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

Exemple de virusuri cu acest tip de simetrie: bacteriofagii T_2, T_4, T_6 care parazitează bacteria *Escherichia coli*, poxvirusurile (virusurile variolei şi vaccinei).

Funcţiile proteinelor care alcătuiesc capsida sunt de a proteja materialul genetic în cursul existenţei extracelulare a virusurilor şi de a favoriza adsorbţia virusului la suprafaţa celulei gazdă.

Pentru multe virusuri care infectează organismul uman şi animal, ataşarea virusurilor la receptorii specifici de pe suprafaţa celulei gazdă (ca interacţiune a proteinelor virale capsidale cu receptorul celular) este determinantul major al specificităţii de specie şi organ.

În unele cazuri, în interiorul capsidei virale se pot găsi o serie de **proteine interne**. Unele dintre acestea sunt asociate cu acidul nucleic, ca de exemplu polimerazele – esenţiale pentru replicare (pentru sinteza de ADN şi ARN). Altele, **proteinele histone – like** pot avea o funcţie de reglare sau de neutralizare a încărcăturii negative a acidului nucleic în cursul asamblării particulei virale. De asemenea, unele capside virale pot conţine, în interior, enzime care degradează ADN-ul şi proteinele celulei gazdă.

Anvelopa (peplosul)

Această structură accesorie este derivată, în mare parte, din membrana celulei în care a avut loc multiplicarea şi eliberarea virusului.

Anvelopa este un înveliş extern al virusului, o membrană lipoproteică alcătuită din lipide provenite din membrana celulară şi proteine specificate de virus.

La unele virusuri, o altă proteină numită **proteină de matrice**, mediază acţiunea între proteinele capsidale şi anvelopă.

Toate virusurilor umane cu simetrie helicală au anvelopă, în timp ce virusurile cu simetrie icosaedrică pot fi nude sau cu înveliş extern. Forma nucleocapsidei determină mărimea anvelopei. Virusurile anvelopate au în general o formă sferică dar sunt variabile ca formă, deoarece anvelopa nu este rigidă.

Anvelopa poate prezenta sau nu **spiculi,** care sunt complexe glicoproteice. Prezenţa spiculilor glicoproteici este o caracteristică a unor virusuri care poate fi utilizată în identificare. Unele virusuri se ataşază de receptorii celulelor gazdă cu ajutorul spiculilor, înainte de a pătrunde în interiorul acestora. Un exemplu în acest sens îl constituie virusul gripal (*Influenzavirus*), la care ataşarea de leucocitele din sânge este determinată de spiculi. Acest virus se leagă de leucocite şi formează

punți de legătură, rezultatul fiind hemaglutinarea, fenomen care stă la baza unor teste utile de laborator. Spiculii virusului gripal au fost bine caracterizați, ei conținând două categorii de proteine numite: **hemaglutinine** și **neuraminidaze.**

Semnificația biologică a anvelopei

- Facilitează adsorbția virusului pe suprafața celulei și prin aceasta infecțiozitatea sa;
- Prezența sau absența anvelopei joacă un rol important în modul de transmitere al virusurilor animalelor de la un organism la altul;
- În general, prezența anvelopei conferă instabilitate virusului; virusurile cu anvelopă sunt mai sensibile la căldură, detergenți și unii solvenți (alcool, eter) decât cele nude;
- Virusurile cu anvelopă se caracterizează printr-o mare fragilitate; anvelopa se degradează rapid în mediul extern și în tubul digestiv al organismelor, sub acțiunea enzimelor;
- Virusurile cu anvelopă rezistă mai puțin în mediul extern și în tubul digestiv al organismelor decât virusurile nude.

9.4. MORFOLOGIA VIRUSURILOR

Morfologia virusurilor este foarte variată. În general, se pot distinge următoarele tipuri morfologice:

- ***tipul ovoidal sferic*** – întâlnit la virusurile animalelor (virusul gripal, adenovirusuri etc.) – Fig. 132;

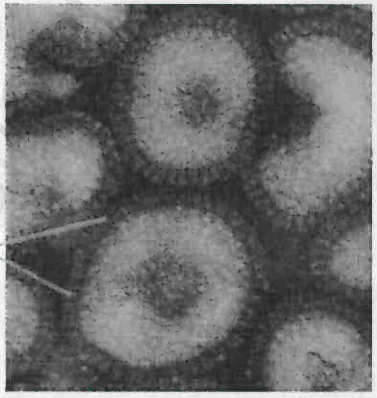


Fig. 132 – Virusul gripal (*Influenzavirus*): imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

- ***tipul poliedric – paralelipipedic*** – specific unor virusuri ale plantelor (virusul necrozei tutunului, virusul nanismului

tomatelor etc.), bacteriofagi cu ARN şi virusuri ale animalelor (virusul variolei) – Fig. 133;

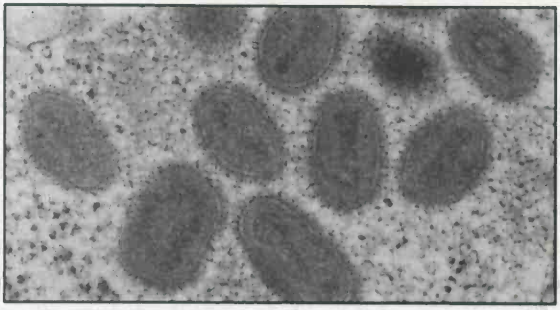


Fig. 133 – Virusul variolei (*Orthopoxvirus*): imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

- ***tipul cilindric-alungit*** – filamentos, flexibil sau rigid întâlnit la VMT (virusul mozaicului tutunului), fagii filamentoşi;
- ***tipul de spermatozoid*** sau ***cireaşă cu coadă*** – specific unor bacteriofagi (fagii din seria T, fagul λ, cianofagi etc.) – Fig. 134;

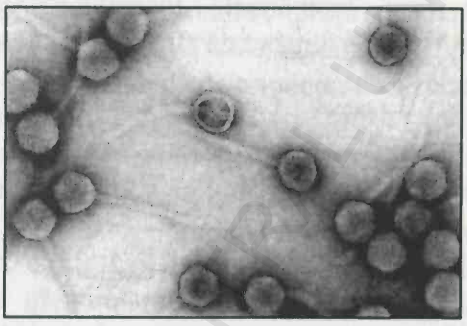


Fig. 134 – Fagul λ: imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker 2000)

- ***tipul de cartuş*** – întâlnit la rhabdovirusuri (virusul rabic, *Vesiculovirus*) – Fig. 135.

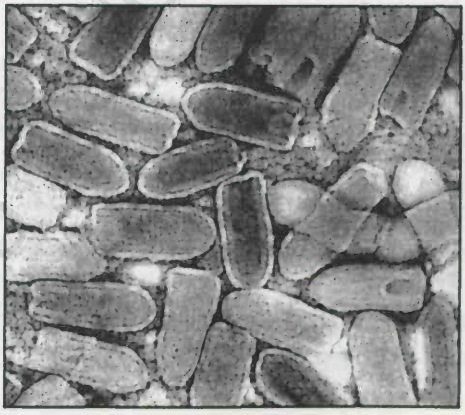


Fig. 135 – *Vesiculovirus*: imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker 2000)

9.5. MULTIPLICAREA VIRUSURILOR

Multiplicarea virusurilor se realizează în general în cinci faze:
1 - adsorbția și penetrația în celula gazdă;
2 - sinteza enzimelor necesare replicării acidului nucleic viral;
3 - sinteza constituenților virali;
4 - asamblarea constituenților virali în virioni maturi;
5 - eliminarea virionilor maturi din celula gazdă.

Procesul de penetrație a virionilor în celula gazdă este diferit la bacteriofagi, virusurile plantelor și animalelor. Bacteriofagii și virusurile plantelor trebuie să pătrundă prin peretele celular al gazdei, în timp ce virusurile animalelor se pot adsorbi direct pe membrana citoplasmatică.

Penetrația bacteriofagilor prin peretele celular bacterian constă în injectarea în citoplasmă a acidului nucleic viral, proteinele capsidale rămânând adsorbite la suprafața peretelui celular.

Virusurile plantelor pătrund în celulă prin leziunile mecanice ale plantelor sau sunt introduse prin înțepăturile insectelor-vectoare, deoarece aceste virusuri nu dispun de mecanisme de străbatere a peretelui celular.

Virusurile animalelor se adsorb pe suprafața membranelor citoplasmatice și pătrund apoi în celule prin fagocitoză sau pinocitoză. Anvelopa unor virusuri facilitează adsorbția virionilor și pătrunderea lor prin membrana citoplasmatică a celulei gazdă.

Dacă în cazul bacteriofagilor în celula gazdă pătrunde numai acidul nucleic, în cazul virusurilor plantelor și animalelor în celulă pătrunde întreaga nucleocapsidă, ceea ce presupune o decapsidare a virionilor prin intervenția unei enzime proteolitice și eliberarea acidului nucleic viral. Acidul nucleic viral inițiază în celula gazdă două procese distincte: **sinteza proteinelor virale specifice și replicarea acidului nucleic viral.**

Dacă acidul nucleic viral este ARN, el îndeplinește direct și funcția de ARN mesager. În cazul în care acidul nucleic viral este ADN atunci are loc transcrierea informației genetice de la ADN la ARN mesager, prin intervenția ARN – polimerazei ADN dependentă. În ambele cazuri traducerea informației genetice virale se realizează la nivelul ribozomilor celulei gazdă, unde se sintetizează enzimele necesare replicării virale și proteinele capsidale.

Acidul nucleic viral servește ca matriță pentru replicarea sa prin sinteza catenelor complementare, datorită polimerazelor specifice.

Mecanismul replicării diferă, după cum este vorba de ADN sau ARN, mono- sau dublucatenar, circular sau liniar.

Procesele de sinteză ale proteinelor şi de replicare a acidului nucleic duc la acumularea în celula gazdă a numeroase molecule de acid nucleic viral şi a numeroase molecule de proteine capsidale. Acestea se **asamblează** spontan formând nucleocapsidele.

Ultimul stadiu al multiplicării virale îl constituie **eliberarea virionilor maturi** din celula gazdă. La bacterii acest fenomen este însoţit de liza celulei produsă de o enzimă virală. La celulele animale eliberarea se poate face prin extrucţie (clasmatoză, respectiv desprinderea din citoplasmă a unor fragmente sub formă de muguri, care conţin virioni maturi) sau prin liză.

9.6. BACTERIOFAGII

Bacteriofagii sunt virusuri care infectează celulele bacteriene. Practic, fiecare specie bacteriană poate servi drept gazdă pentru bacteriofagi. Ei prezintă proprietăţile generale caracteristice tuturor virusurilor. Studiile electronomicroscopie au evidenţiat o morfologie variată, în general, distingându-se următoarele tipuri morfologice (Fig. 136):

- bacteriofagi filamentoşi (M_{13}, fl);
- bacteriofagi poliedrici (MS_2);
- bacteriofagi cu morfologie complexă, formaţi dintr-un corp cu simetrie icosaedrică şi o coadă cu simetrie helicală (T, λ, Mu).

Din punct de vedere al conţinutului în acizi nucleici există bacteriofagi cu ADN şi bacteriofagi cu ARN.

9.6.1. Bacteriofagi cu ADN

Cei mai bine studiaţi bacteriofagi sunt cei din seria T (engl. = *type*) care infectează bacteria *Escherichia coli*. Seria T cuprinde grupul T par (T_2, T_4, T_6) şi grupul T impar (T_1, T_3, T_5 T_7).

Morfologia bacteriofagilor T-par

Particula virală a fagilor T-par este alcătuită din două părţi (Fig. 137):

- *capul fagului* - poate fi sferic, cilindric sau prismatic hexagonal, reprezentând o capsidă proteică cu simetrie icosaedrică; în

interiorul capsidei se găseşte genomul fagic reprezentat printr-o moleculă de ADN dublucatenară, liniară, cu o lungime de 50 μm, ce cuprinde aproximativ 200 gene;

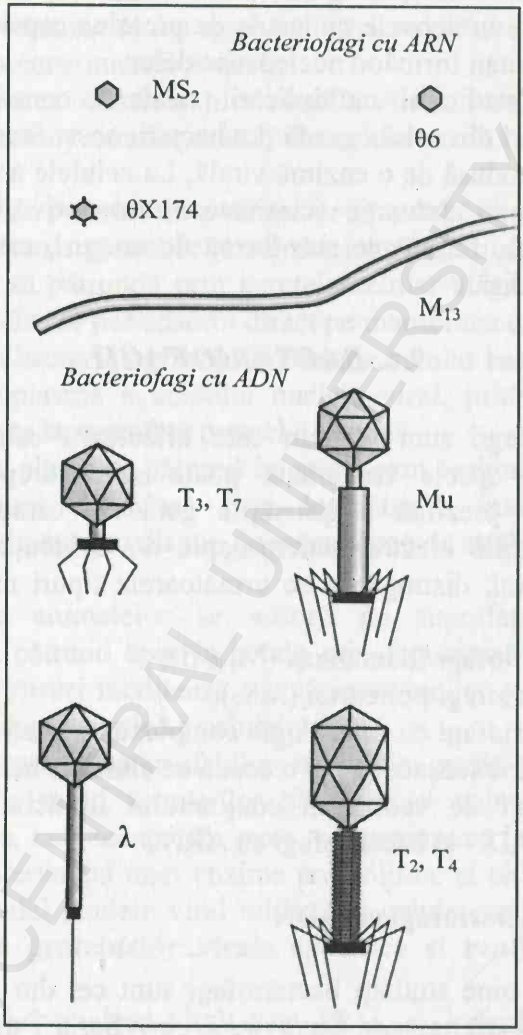


Fig. 136 – Reprezentarea schematică a principalelor tipuri de bacteriofagi

➢ *coada fagului* – este de natură proteică şi prezintă o simetrie helicală; comunică cu capul fagic printr-un col (gât); este formată dintr-un cilindru central rigid şi gol acoperit de o teacă helicală, contractilă; extremitatea cozii se termină cu o placă terminală (enzimatică) pe care se fixează fibrele caudale (organe de fixare a bacteriofagilor pe bacteria sensibilă).

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

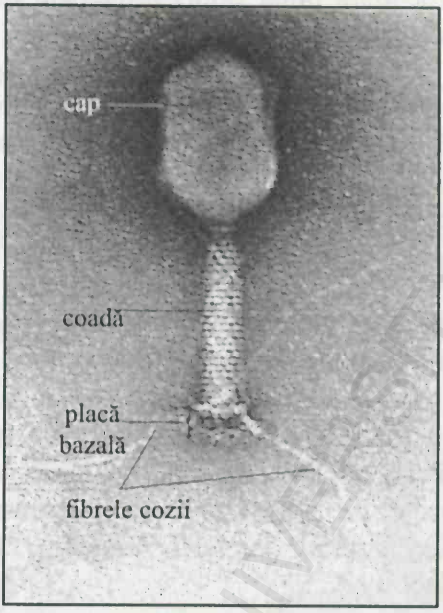


Fig. 137 – Bacteriofagul T_4: imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker 2000)

9.6.2. Bacteriofagi cu ARN

Astfel de virusuri au fost studiate la bacteriile enterice (*Escherichia coli, Salmonella* sp.) Dimensiunile bacteriofagilor cu ARN sunt relativ mici, aproximativ 26 nm. Capsida are formă icosaedrică, fiind formată din aproximativ 180 subunităţi structurale identice, reprezentate de o singură proteină capsidală şi o singură moleculă de proteină A (engl. *attachement* = ataşare), formată din 350 aminoacizi, necesară asamblării corecte a virionului, fixării fagului de celula bacteriană şi pătrunderii ARN-ului viral.

Genomul acestor bacteriofagi este reprezentat printr-o singură moleculă de ARN monocatenar, cu o lungime de aproximativ 3300-3500 nucleotide (3569 la fagul MS_2). Numărul de nucleotide corespunde doar la trei gene care codifică trei proteine: proteina capsidală, proteina A şi replicaza virală.

9.6.3. Multiplicarea bacteriofagilor

Multiplicarea bacteriofagilor se realizează exclusiv în interiorul celulei bacteriene pe care o infectează. În relaţia bacteriofag-celulă

bacteriană pot fi evidențiate două tipuri principale de comportamente, care corespund la două tipuri de fagi:

- **fag virulent cu realizarea ciclului litic**– ajuns în interiorul celulei, genomul viral deviază metabolismul normal al gazdei, în vederea sintezei de constituenți fagici şi formarea de particule virale; acest ciclu de multiplicare este urmat, de regulă, de liza celulei bacteriene şi de eliberarea unui număr mare de particule fagice infecțioase; ciclul litic este caracteristic fagilor din seria T par;
- **fag temperat cu realizarea ciclului lizogen** – genomul bacteriofagului pătruns în celula bacteriană se integrează în cromozomul bacterian şi se replică sincron cu acesta, fiind tolerat temporar; un astfel de bacteriofag se numeşte *profag temperat* iar tipul de relație cu celula bacteriană este cunoscută sub numele de *lizogenie*; bacteriile care poartă şi transmit profagul în descendență se numesc *bacterii lizogene*; ciclul lizogen este caracteristic fagului λ.

Ciclul litic – Multiplicarea bacteriofagilor cu ADN (bacteriofagul T_4)

Bacteriofagul T_4, caracteristic bacteriei *Escherichia coli*, se multiplică pe parcursul mai multor faze (Fig. 138):

- adsorbția şi penetrația;
- biosinteza constituenților virali;
- asamblarea virionilor;
- eliberarea virionilor din celula bacteriană.

1. Adsorbția şi penetrația bacteriofagului sunt precedate de o serie de interacțiuni întâmplătoare dintre particulele fagice şi celula bacteriană.

Mecanismele care intervin pe parcursul acestei faze sunt complexe, putând fi distinse trei etape succesive (Fig. 139):

a – fixarea virionului pe suprafața peretelui celulei bacteriene;

b – pătrunderea prin peretele celular;

c – injectarea în citoplasma celulei bacteriene a acidului nucleic viral.

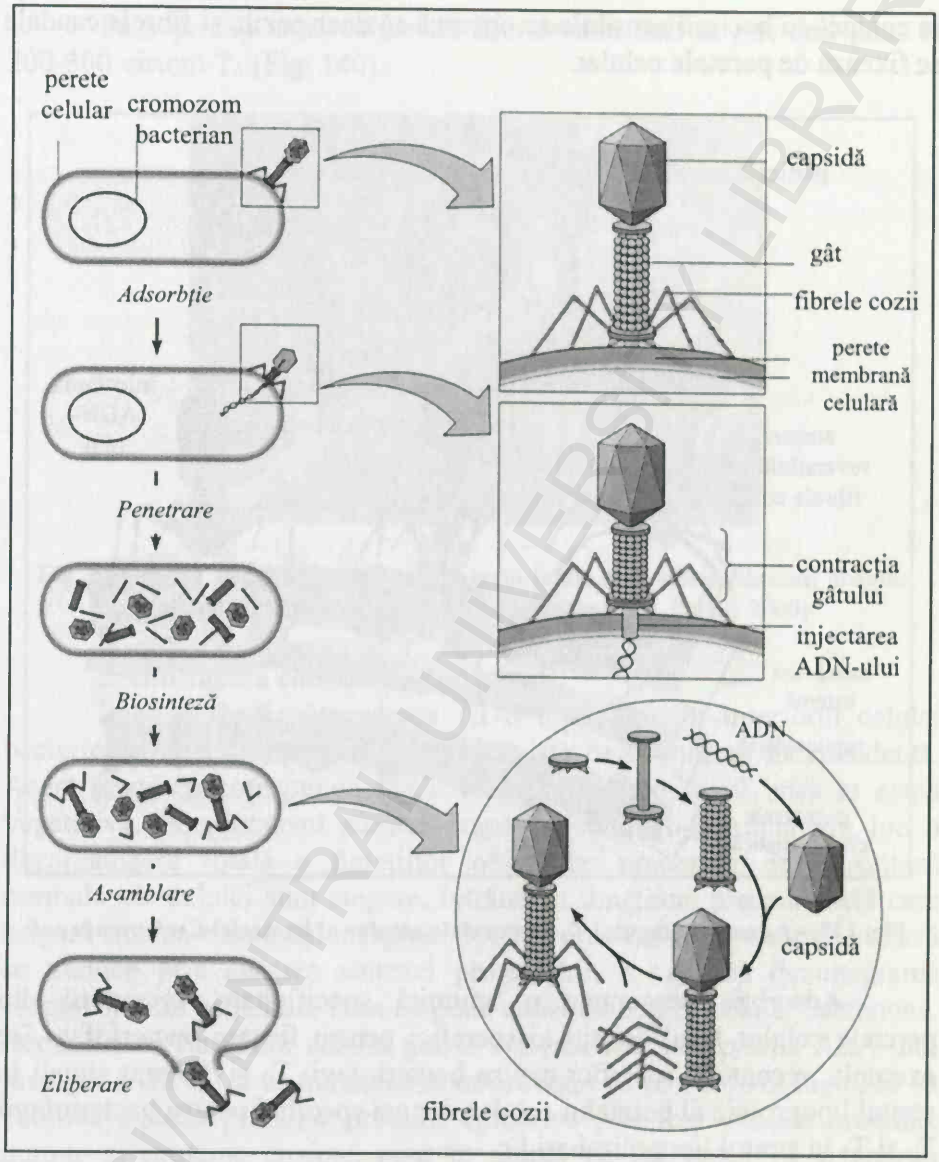


Fig. 138 – Ciclul litic la bacteriofagii cu ADN din seria T par

Fixarea bacteriofagului pe suprafața celulei bacteriene este rezultatul interacțiunilor dintre proteinele din coada fagului și receptorii de pe peretele celular. Acest proces are la bază o interacțiune chimică pe parcursul căreia se formează legături slabe între cele două situsuri reprezentate de aparatul de adsorbție al fagului (fibrele cozii și placa bazală) pe de o parte și suprafața celulei gazdă prin receptorii de fag pe de altă parte. Dacă bacteriofagii sunt dezintegrați iar fragmentele se pun

în contact cu bacterii sensibile se observă că doar cozile şi fibrele caudale se fixează de peretele celular.

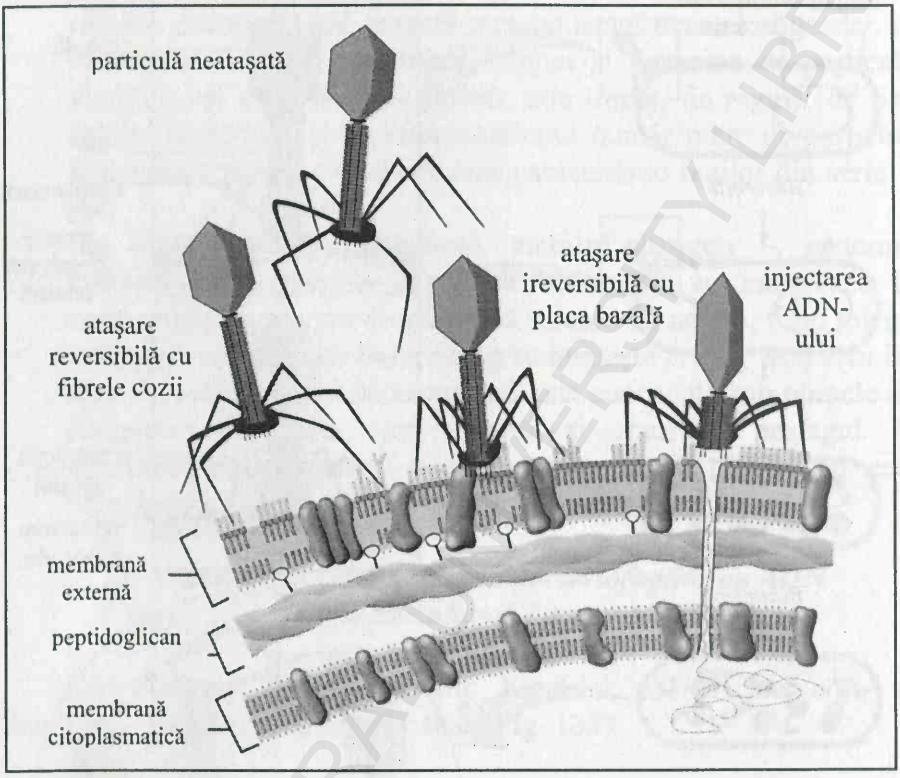


Fig. 139 – Adsorbţia fagului T_4 de peretele celular al bacteriei *Escherichia coli*

Adsorbţia presupune o anumită specificitate, receptorii din peretele celular fiind diferiţi şi specifici pentru fiecare bacteriofag. De exemplu, receptorii specifici pentru bacteriofagii T_2 şi T_4 sunt situaţi în stratul lipoproteic al peretelui celular, iar cei specifici pentru bacteriofagii T_3 şi T_7 în stratul lipopolizaharidic.

Momentul iniţial al fixării bacteriofagului este reversibil. Odată însă cu eliberarea din placa bazală a unei enzime active, care atacă componentele peretelui celular, fixarea devine ireversibilă. Ca urmare a acţiunii enzimei de penetraţie au loc simultan o dislocare a peretelui celulei bacteriene şi o contracţie a cozii fagului, ce determină injectarea ADN-ului fagic în interiorul celulei bacteriene. La exteriorul acesteia rămâne „fagul fantomă" format numai din cap şi coadă. ADN-ul fagic pătruns în celula bacteriană deţine întreaga informaţie genetică necesară sintezei de noi virioni.

Pe suprafața unei celule de *Escherichia coli* se pot fixa până la 200-300 virioni T_4 (Fig. 140).

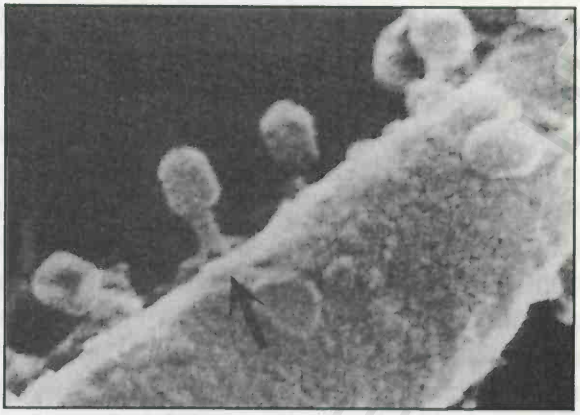


Fig. 140 – Fagi T_4 atașați pe suprafața unei celule de *Escherichia coli*: imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker 2000)

2. Biosinteza constituenților virali

Imediat după pătrunderea ADN-ului fagic în interiorul celulei bacteriene, aceasta încetează să mai existe ca o entitate independentă. Acest fenomen corespunde fazei de eclipsă, când fagul intră în etapa vegetativă. Pe parcursul acestei etape în celula bacteriană are loc o dezorganizare totală a funcțiilor obișnuite: procesele de biosinteză normale ale celulei sunt stopate, intrând în funcțiune mecanismele care asigură sinteza elementelor fagice. Oprirea proceselor normale de sinteză se traduce prin sistarea sintezei proteinelor, paralel cu dezintegrarea cromozomului bacterian, ceea ce pune capăt diviziunii celulei bacteriene. Reorientarea funcțiilor celulei gazdă este marcată de apariția ARN-ului mesager (ARN_m) și de transcrierea informației de pe ADN-ul fagic, ce va codifica sinteza primelor proteine (proteine precoce). Aceste proteine, numite și proteine enzime, sunt în număr de cel puțin 14 și aparțin polimerazelor, kinazelor, transferazelor, sintetazelor, dezoxiribonucleazelor, toate fiind necesare replicării ADN-ului fagic. Sinteza acestor enzime începe imediat după injectarea genomului viral în celula bacteriană și se termină aproximativ după 15 minute de la debutul infecției.

Pe baza acestor enzime se trece ulterior la sinteza constituenților fagici: ADN și proteine capsidale.

Prezența hidroximetilcitozinei în compoziția ADN-ului fagilor din seria T pară permite distingerea cu ușurință a ADN-ului viral de cel al

celulei gazdă, care conține citozină. Translația informației de pe ADN-ul fagic se realizează cu ajutorul ribozomilor, enzimelor şi aminoacizilor celulei bacteriene. Moleculele de ADN sintetizate în celula bacteriană se acumulează sub forma unui gel foarte hidratat, pe care se fixează o teacă formată din molecule de glucoză ce protejează ADN-ul de atacul nucleazelor.

Biosinteza (transcrierea şi traducerea) proteinelor tardive implică în principal formarea a trei categorii de proteine:

- proteine de structură (capsidale) - care vor intra în structura viitoarei capside; ele apar în celula bacteriană după aproximativ nouă minute de la debutul infecției, fiind sintetizate la nivelul ribozomilor celulei gazdă pe seama aminoacizilor din mediu;
- proteine de morfogeneză - care nu sunt încorporate în virioni;
- proteine care asigură liza celulei bacteriene în vederea eliberării particulelor fagice nou formate.

3. Asamblarea virionilor

Deşi ADN-ul şi proteinele capsidale pot fi evidențiate în celula bacteriană la aproximativ nouă minute după infecție, primii virioni sunt identificați abia după 12 minute. În acest interval are loc condensarea moleculelor de ADN şi formarea capului fagic din subunitățile proteice. Acesta este acoperit ulterior de proteinele capsidale. La final are loc ataşarea nucleocapsidei de coada fagului. Asamblarea nu este totală pentru că aproape întotdeauna rămâne o anumită cantitate de ADN viral şi de proteine capsidale care nu se încorporează în virioni maturi.

Faptul că o structură complexă, aşa cum este virionul matur, se asamblează cu o regularitate precisă presupune existența unor mecanisme de coordonare care, după toate probabilitățile, sunt de natură genetică.

4. Eliberarea virionilor din celula bacteriană (liza celulară)

Stadiul final al multiplicării fagului T_4 este reprezentat de eliberarea virionilor din celula bacteriană. Deşi fagii sunt complet formați după aproximativ 12 minute de la debutul infecție, eliberarea lor nu se realizează decât după 25 minute. Procesul de eliberare este foarte rapid, desfăşurându-se în câteva secunde, prin ruperea peretelui celular în urma acțiunii unei enzime numită endolizina.

Bacteriofagii eliberați prin liza peretelui celular infectează alte celule din apropiere şi ciclul de multiplicare virală este reluat.

Ciclul lizogen – Multiplicarea bacteriofagului λ

Ciclul lizogen a fost descris pentru fagul λ, specific bacteriei *Escherichia coli* tulpina K-12. Spre deosebire de fagii T par, care sunt virulenți și produc liza tuturor celulelor pe care le infectează, fagul λ descoperit de Lederberg (1951) este un **fag temperat**, care are două căi posibile de evoluție după infecția celulei bacteriene:

1 - *calea litică* – implică replicarea fagului urmată de liza bacteriilor;

2 - *calea lizogenă* – celula bacteriană supraviețuiește deoarece genomul fagic este integrat în cromozomul bacterian ca **profag** (Lwoff, 1952), fiind replicat la fiecare diviziune celulară ca o parte a cromozomului celulei gazdei (Zarnea, 1983) – Fig. 141.

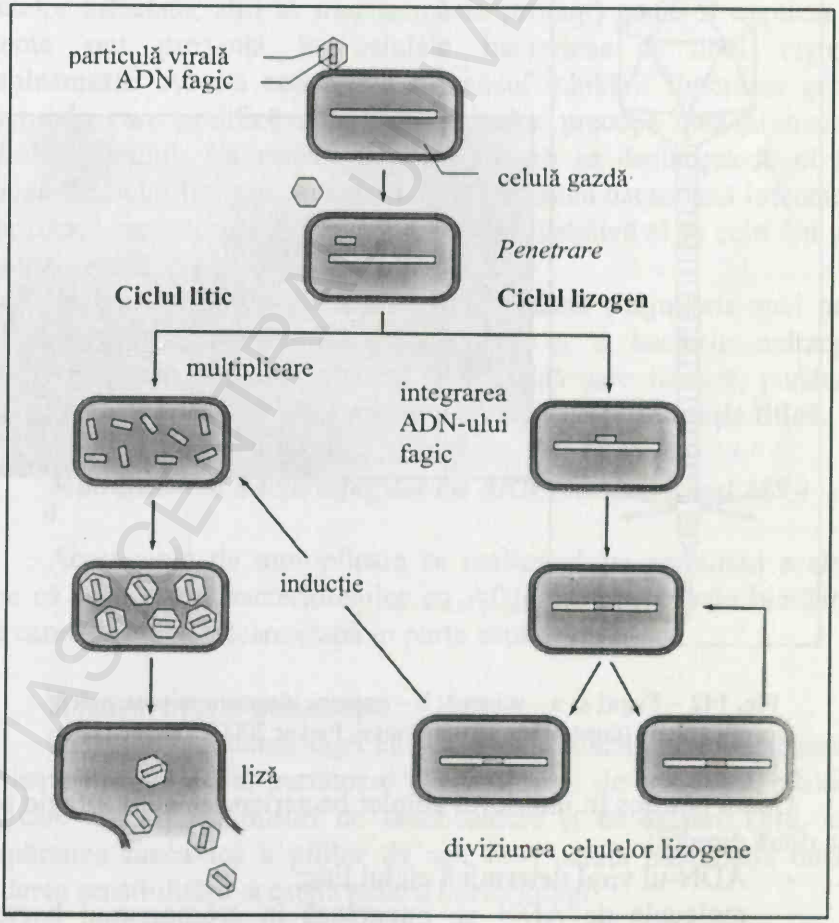


Fig. 141 – Ciclul litic și lizogen la bacteriofagul λ

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Bacteriile care poartă fagul temperat se numesc **bacterii lizogene**. Odată instalată, starea de lizogenie este foarte sensibilă şi perpetuată de la o generaţie bacteriană la alta, deoarece profagul rămâne integrat stabil şi represat ca manifestare.

Fagul λ are unele particularităţi care-l deosebesc de fagii din seria T par (Fig. 142). Capul fagului este isometric, cu un diametru de 60 nm, fiind alcătuit din 72 capsomere, coada este flexibilă (necontractilă), terminată cu o prelungire şi fibre subterminale.

Genomul fagului este reprezentat de o moleculă dublucatenară de ADN, cu extremităţi monocatenare şi complementare. Datorită acestui fapt, după adsorbţie şi penetraţie, poate avea loc o împerechere a bazelor, ceea ce duce la o circularizare a moleculei.

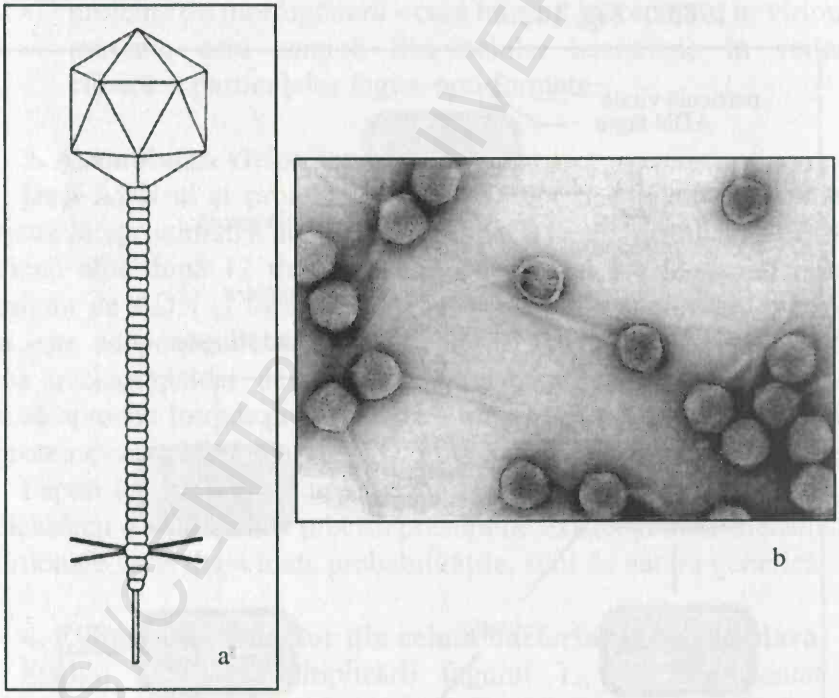


Fig. 142 – Fagul λ: a – schemă; b – imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker 2000)

Odată pătruns în interiorul celulei bacteriene genomul fagic poate urma două direcţii:

- ADN-ul viral determină ciclul litic;
- molecula de ADN se integrează în cromozomul bacterian (între genele *gal* - pentru utilizarea galactozei şi *bio* - pentru

sinteza de biotină) şi determină ciclul lizogen; acest genom fagic integrat în cromozomul bacterian poartă numele de profag; integrarea este posibilă datorită ataşării unor regiuni specifice de pe ADN λ de regiuni omologe de pe ADN-ul bacterian şi integrării (prin rupere şi reunire) celor două molecule de ADN sub acţiunea unei enzime de recombinare codificate de fag.

Între bacteria lizogenă şi profagul său se stabileşte o relaţie de echilibru. Bacteria lizogenă este imună la o nouă infecţie cu un nou bacteriofag λ, însă poate fi infectată cu alţi bacteriofagi.

În interiorul bacteriei lizogene profagul se comportă ca o genă care se replică sincron cu ADN-ul bacterian astfel încât fiecare celulă, rezultată prin diviziuni ulterioare, moşteneşte o copie a sa.

Comportamentul diferit al bacteriofagilor (unii determină liza celulelor infectate, alţii se transformă în profagi) poate fi explicat prin absenţa sau prezenţa în celulele bacteriene a unui **represor citoplasmatic**. Acesta acţionează în sensul inhibării funcţiilor genelor structurale care codifică sinteza proteinelor precoce absolut necesare replicării fagului. Ca urmare, ciclul litic nu se declanşează, el fiind înlocuit de ciclul lizogen. În situaţia în care celula bacteriană infectată nu sintetizează represorul, fagul intră în faza vegetativă şi în cele din urmă bacteria lizează.

Experimental s-a demonstrat că în urma conjugării unei celule bacteriene lizogene considerată „mascul" şi o bacterie nelizogenă considerată „femelă" rezultatul va fi o celulă care lizează, punând în libertate fagi activi. Acest fenomen poartă numele de **inducţie litică**.

Multiplicarea bacteriofagilor cu ARN (bacteriofagul MS_2)

Acest ciclu de multiplicare se realizează pe parcursul aceloraşi etape ca şi în cazul bacteriofagilor cu ADN, însă procesele biochimice care caracterizează fiecare etapă în parte sunt diferite.

1. Adsorbţia şi penetraţia

Sensibile la bacteriofagii cu ARN sunt numai bacteriile „mascul" implicate în conjugare, purtătoare ale factorului de sex F^+ şi pililor de sex, care constituie situsuri de recunoaştere şi de ataşare (Fig. 143). Îndepărtarea mecanică a pililor de sex la o celulă bacteriană duce la pierderea sensibilităţii acesteia pentru bacteriofagi.

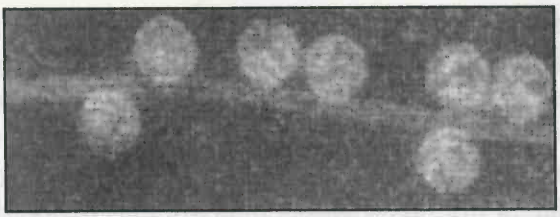


Fig. 143 – Bacteriofagi cu ARN ataşaţi de suprafaţa pililor:
imagine electronomicroscopică (după Madigan, Martinko, Parker 2000)

În interiorul celulei bacteriene pătrunde numai ARN-ul viral prin intermediul canalului pililor de sex, pătrunderea fiind influenţată de proteina A şi de cationii bivalenţi de Ca^{2+} şi Mg^{2+}.

Faza de eclipsă durează aproximativ 15 minute. După pătrunderea în interiorul celulei genomul viral (ARN) joacă mai multe roluri:

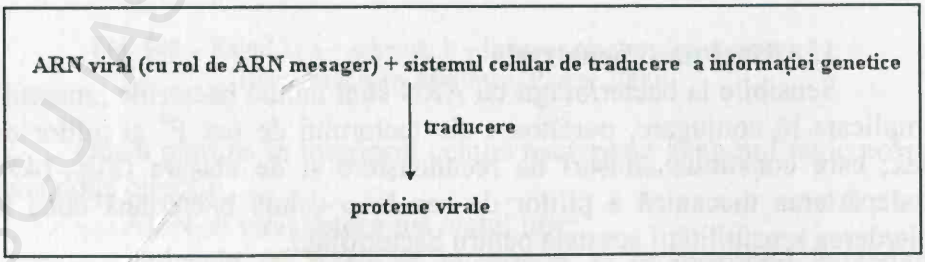
1 - serveşte ca ARNm pentru codificarea celor trei proteine virale (replicaza virală, proteina A, proteina capsidală), utilizând pentru aceasta ribozomii, ARNt, acizii aminici şi enzimele celulei bacteriene gazdă;

2 - este folosit ca matriţă pentru propria replicare cu ajutorul replicazei virale;

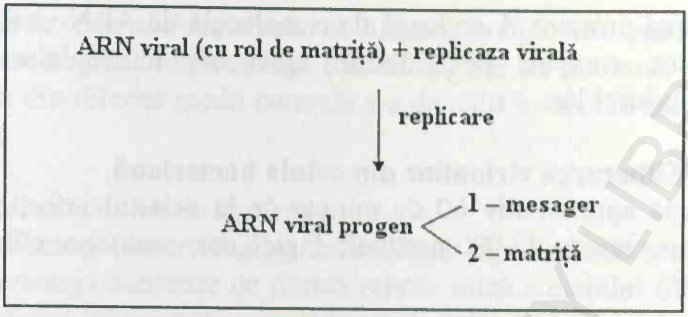
3 - constituie parte integrantă din particula fagică matură.

2. Biosinteza constituenţilor virali

Replicarea ARN-ului fagic se realizează pe parcursul a două procese cuplate în care acesta funcţionează ca ARNm pentru sinteza proteinelor şi ca model pentru sinteza ARN-ului viral progen. Acesta din urmă serveşte la rândul său fie ca ARNm, fie ca model pentru sinteza de noi molecule de ARN viral după schemele:



BCU IAŞI CENTRALĂ UNIVERSITARĂ LIBRARY



Replicarea ARN-ului fagic se face independent de sinteza ARN-ului celulei bacteriene gazdă, necesitând prezența replicazei virale. Această replicare nu se poate face într-o singură etapă, fiind tot timpul necesară existența unui intermediar de replicare și a unei catene complementare (-) după schema:

Catenă ARN (+) ⟶ Catenă ARN (-) ⟶ Catenă ARN (+)

Din acest motiv, replicarea ARN-ului viral se realizează practic în două etape, inițial catena parentală (+) servește ca matriță pentru sinteza unei catene (-) cu care se împerechează, constituind forma replicativă (Fr). În a doua etapă, catena (-) servește ca matriță pentru sinteza unei noi catene (+) care devine ea însăși o catenă parentală, procesul reluându-se. Acest model de replicare este în esență semiconservativ asimetric, deoarece se sintetizează mai multe catene (+) decât (-). Toate reacțiile sunt catalizate de replicaza virală.

Sinteza proteinelor virale implică producerea celor trei proteine virale: capsidale, replicaze și proteină A. În funcție de necesități se sintetizează masiv proteine capsidale și un număr mai mic de replicaze și mai ales de proteină A.

3. Asamblarea virionilor

Procesul de asamblare începe în momentul în care în celula bacteriană s-au acumulat suficiente proteine capsidale, proteina A și molecule de ARN (+), desfășurându-se după schema:

1 moleculă ARN viral + 1 moleculă proteină A + 180 molecule proteină capsidală = 1 virion

Inițial proteina A se leagă de o moleculă de ARN viral, formând un complex compact ce grăbește agregarea moleculelor proteinei capsidale în jurul lor.

4. Eliberarea virionilor din celula bacteriană

După aproximativ 60 de minute de la debutul infecției bacteria conține aproximativ 40.000 particule fagice care sunt apoi eliberate prin liza celulei.

9.6.4. Importanța practică a bacteriofagilor

Utilitatea practică a bacteriofagilor este dictată în primul rând de diversitatea lor structurală și funcțională. Bacteriofagii pot fi utilizați în diferite domenii (Herlea, 1998):

- *Ca agenți terapeutici antibacterieni*

Încă din primii ani după descoperirea bacteriofagilor s-au efectuat o serie de experiențe care vizau posibilitatea utilizării fagilor în terapia antibacteriană. Deși inițial lipsite de rezultate favorabile datorită imunogenității puternice a particulelor virale, experiențele în acest domeniu au fost reluate în ultimii ani pe fondul apariției problemelor determinate de utilizarea necorespunzătoare și uneori costisitoare a antibioticelor. În ultimii ani s-au obținut rezultate experimentale promițătoare la animale în ceea ce privește utilizarea preparatelor fagice în infecțiile cu tulpini de enterobacterii.

- *Studii epidemiologice*

Utilizarea fagilor litici în tipizarea epidemiologică se bazează pe specificitatea deosebită a bacteriofagilor. Astfel, foarte mulți fagi pot fi utilizați pentru discriminarea tulpinilor bacteriene, care prin metode serologice sau biochimice nu pot fi diferențiate. În acest fel, se poate studia cu ușurință distribuția și răspândirea unei bacterii patogene în cadrul unei comunități. Tehnica este utilizată cu succes pentru speciile genului *Salmonella* (*S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. typhimurium*) și *Staphylococcus aureus*).

Un avantaj deosebit al tipizării fagice față de alte tehnici de diferențiere a speciilor bacteriene îl constituie simplitatea, necesitând numai înregistrarea prezenței sau absenței plajelor de liză fagică (lizotipie).

➢ *Rol în controlul numărului de bacterii în diferite medii naturale*

Deşi neglijat iniţial, rolul bacteriofagilor în limitarea numărului de bacterii din diferite medii naturale s-a dovedit în ultimii ani a fi destul important.

➢ *Ca instrumente de cercetare*

Utilizarea bacteriofagilor ca material experimental are la bază o serie de avantaje conferite de durata relativ mică a ciclului litic. O serie de descoperiri importante ca deducerea naturii de triplet a codului genetic, testul de complementaţie (cis-trans) şi altele, care stau la baza cercetărilor actuale de genetică au fost realizate cu ajutorul fagilor.

➢ *Procese industriale*

Fagii unor bacterii de interes industrial pot avea deseori efecte negative. Astfel, culturile starter ale streptococilor lactici folosite la fabricarea brânzeturilor sunt susceptibile de atacul fagilor caracteristici. Pentru înlăturarea consecinţelor negative se pot utiliza culturi starter mixte sau medii fără calciu. De asemenea, o serie de actinomicete utilizate la biosinteza antibioticelor sunt susceptibile la atacul fagilor (actinofagi), necesitând impunerea unor măsuri adecvate.

9.7. MULTIPLICAREA VIRUSURILOR ANIMALELOR

Principalele criterii de clasificare ale virusurilor animalelor sunt reprezentate de tipul acidului nucleic, prezenţa sau absenţa anvelopei, modalitatea de replicare (Fig. 144).

Ciclul de multiplicare la virusurile animalelor cuprinde aceleaşi faze ca şi în cazul bacteriofagilor, existând însă o serie de particularităţi. Evenimentele care se succed pe parcursul fiecărei etape ale ciclului diferă foarte mult, funcţie de genomul viral, reprezentat de ADN sau ARN.

9.7.1. Multiplicarea virusurilor animalelor cu ADN

Principalele faze ale multiplicării virusurilor animalelor cu ADN sunt următoarele (Fig. 145).

1. ***Adsorbţia*** – ca şi bacteriofagii, virusurile animalelor au situsuri de adsorbţie care permit ataşarea de situsurile receptoare complementare de pe suprafaţa celulei gazdă; de regulă, situsurile receptoare ale celulelor animale sunt reprezentate de proteine şi glicoproteine din structura

membranei celulare (Fig. 146). Situsurile de atașare ale virusurilor animalelor sunt repartizate pe suprafața acestora, variind de la un grup la altul: de exemplu, la virusul gripal, situsurile de atașare sunt reprezentate de spiculele localizate la suprafața anvelopei.

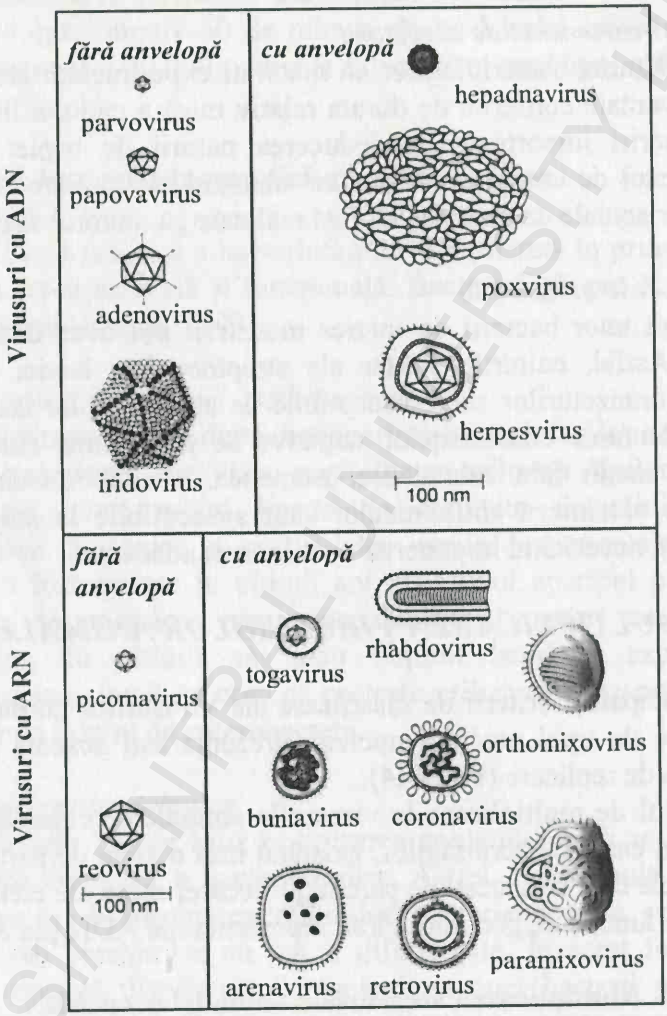


Fig. 144 – Principalele tipuri de virusuri ale animalelor

Prezența situsurilor de atașare determină o anumită specificitate pentru celulele gazdă (citotropism) și un anumit spectru de acțiune al virusurilor animalelor. Astfel, unele virusuri au spectru de acțiune îngust, în timp ce altele au un spectru mai larg (de ex. poliovirusul poate infecta celulele omului și primatelor, în timp ce virusul rabic poate infecta celulele tuturor mamiferelor).

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITY LIBRARY

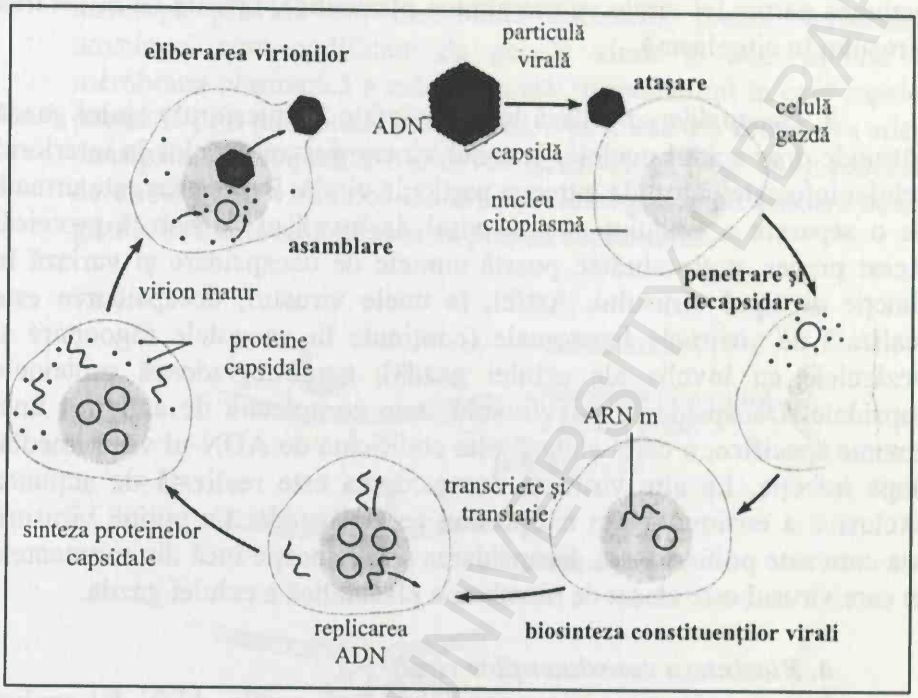


Fig. 145 – Multiplicarea virusurilor animalelor cu ADN

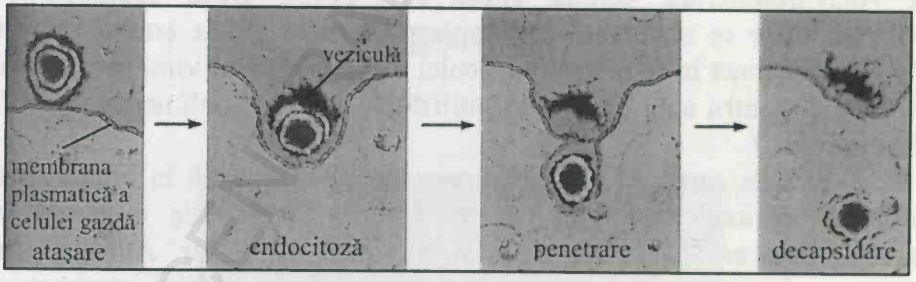


Fig. 146 – Pătrunderea virusului herpes simplex în celula animală: imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

2. ***Penetrarea*** – spre deosebire de bacteriofagi, virusurile care infectează celulele animalelor pătrund în interiorul celulei gazdă în întregime, prin mecanisme diferite. Cel mai frecvent, pătrunderea virusurilor se realizează prin **endocitoză** sau înglobarea particulei virale într-o veziculă de pinocitoză, în interiorul căreia începe şi procesul de decapsidare (Fig. 146).

Virusurile cu anvelopă (ex. virusul HIV) pot pătrunde în celula gazdă şi printr-o cale alternativă numită **fuziune**, care se realizează prin

fuziunea particulei virale cu membrana plasmatică, urmată de eliberarea virusului în citoplasmă.

3. ***Decapsidarea*** – dacă la bacteriofagi în interiorul celulei gazdă pătrunde doar acidul nucleic, în cazul virusurilor animalelor în interiorul celulei infectate pătrunde întreaga particulă virală. Penetrarea este urmată de o separare a acidului nucleic viral de învelişul de natură proteică. Acest proces, puţin studiat, poartă numele de decapsidare şi variază în funcţie de tipul virusului. Astfel, la unele virusuri, decapsidarea este realizată de enzimele lizozomale (conţinute în vacuolele fagocitare şi veziculele cu înveliş ale celulei gazdă), care degradează proteinele capsidale. Decapsidarea poxvirusului este completată de acţiunea unei enzime specifice, a cărei sinteză este codificată de ADN-ul viral imediat după infecţie. La alte virusuri, decapsidarea este realizată de acţiunea exclusivă a enzimelor din citoplasma celulei gazdă. La puţine virusuri, aşa cum este poliovirusul, decapsidarea poate începe încă din momentele în care virusul este ataşat de membrana plasmatică a celulei gazdă.

4. ***Biosinteza constituenţilor virali***

În general, virusurile animalelor care conţin ADN îşi replică propriul acid nucleic în nucleul celulei gazdă, utilizând enzimele virale şi ARN-polimeraza celulei gazdă (Fig 145). Doar multiplicarea poxvirusurilor se realizează în citoplasmă pentru că ele conţin propria ARN-polimerază în interiorul particulei virale. ADN-ul viral este folosit ca matriţă pentru sinteza ARNm, utilizându-se ARN-polimeraza, ADN-dependentă.

Sinteza capsidei şi a altor proteine se realizează în citoplasmă, utilizând enzimele celulei infectate. Ulterior, proteinele migrează în nucleu unde are loc asamblarea şi formarea virionilor. Aceştia sunt transportaţi prin reticulul endoplasmatic până la nivelul membranei plasmatice, de unde vor fi eliberaţi prin liza celulei gazdă.

5. ***Eliberarea virionilor din celula gazdă*** se poate realiza pe două căi:

a – **liza celulei** şi eliberarea particulelor virale (caracteristică virusurilor fără anvelopă);

b – **înmugurire** - caracteristică virusurilor cu anvelopă, care îşi definitivează structura prin formarea unui înveliş extern derivat din membrana celulei gazdă (excepţie fac herpesvirusurile, la care

anvelopa provine din membrana nucleară); practic, proteinele anvelopei sunt codificate de genele virale şi sunt incluse în membrana plasmatică a celulei gazdă; în momentul în care capsida pătrunde prin membrana plasmatică, o porţiune din aceasta va adera de capsidă, înconjurând-o şi devenind anvelopă (Fig. 147); procesul de eliberare al virionilor maturi prin înmugurire nu omoară celula gazdă, în multe situaţii aceasta putând supravieţui.

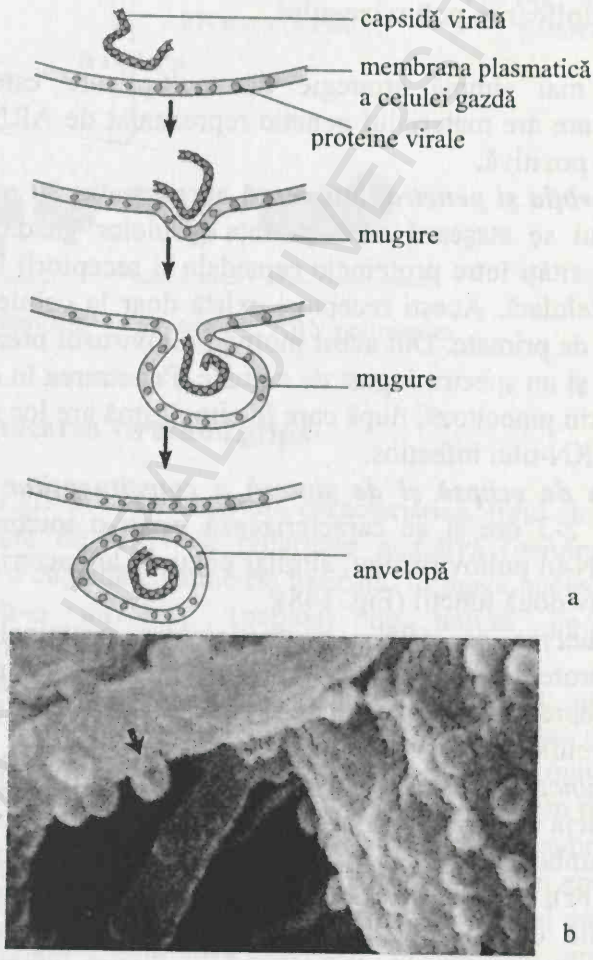


Fig. 147 – Eliberarea virionilor prin înmugurire: a - schemă; b - imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

9.7.2. Multiplicarea virusurilor animalelor cu ARN

Multiplicarea virusurilor cu ARN se desfăşoară în citoplasma celulelor gazdă, fiind, în general, asemănătoare cu cea a virusurilor cu ADN. Diferenţele care apar sunt reprezentate de mecanismele de sinteză ale ARN-ului viral şi ARNm. Vom lua spre exemplificare din această categorie de virusuri, poliovirusul (virusul poliomielitic) – care produce poliomielita şi mixovirusul (virusul gripal).

Multiplicarea poliovirusului

Cea mai simplă strategie de multiplicare este ilustrată de poliovirus, care are materialul genetic reprezentat de ARN monocatenar de polaritate pozitivă.

Adsorbţia şi penetraţia durează aproximativ 30 minute. Virionii poliovirusului se ataşează de suprafaţa celulelor gazdă, datorită unei complementarităţi între proteinele capsidale şi receptorii lipoproteici din membrana celulară. Aceşti receptori există doar la celulele umane şi la unele specii de primate. Din acest motiv, poliovirusul prezintă o anumită specificitate şi un spectru îngust de acţiune. Penetrarea în celula gazdă se realizează prin pinocitoză, după care în citoplasmă are loc decapsidarea şi eliberarea ARN-ului infecţios.

Faza de eclipsă şi de sinteză a constituenţilor virali durează aproximativ 2-3 ore şi se caracterizează printr-o intensă activitate de sinteză. ARN-ul poliovirusului, similar celui de la bacteriofagul MS_2, va avea succesiv două funcţii (Fig. 148):

- *funcţia de ARNm* pentru sinteza proteinelor precoce, a proteinelor capsidale, a ARN-polimerazei şi a unor proteine represoare care blochează sinteza ARN-ului şi a proteinelor celulei gazdă.
- *funcţia de matriţă „+”* pe care, datorită ARN-polimerazei deja sintetizate, se va forma o nouă catenă complementară „-”; ambele catene „+” şi „-” formează împreună forma replicativă (Fr); pornind de la catena „-” se vor sintetiza mai multe copii ale catenei „+”, ansamblul lor formând intermediarul de replicare (Ir); numai catenele „+” sunt infecţioase şi se vor încapsida în fazele ulterioare.

După încapsidare, virionii maturi se acumulează în citoplasma celulei gazdă după aproximativ 3 ore de la debutul infecţiei. Eliberarea lor se face prin liza celulei.

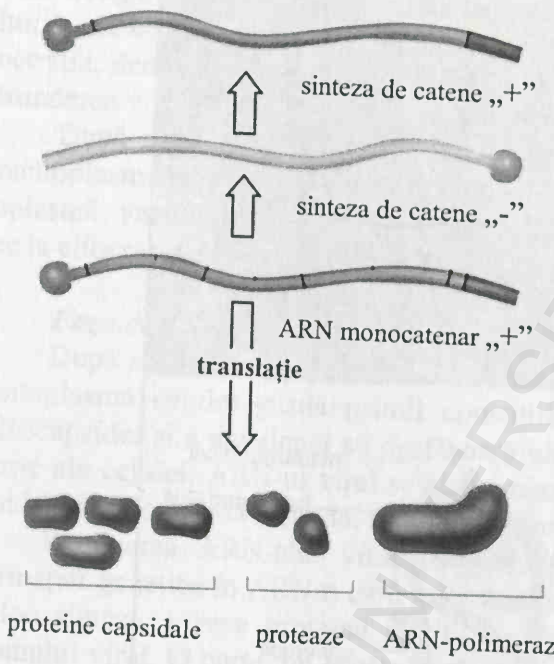


Fig. 148 – Multiplicarea poliovirusului

Multiplicarea virusului gripal

Virusul gripal are o structură caracteristică, fiind alcătuit din mai multe fragmente de ARN de polaritate negativă (genom segmentat) înconjurate de o capsidă cu simetrie helicală. Întreaga nucleocapsidă este înfăşurată într-o anvelopă (peplos) de natură lipoproteică şi mucopolizaharidică (Fig. 149).

Virionii gripali conţin două tipuri de antigene: unul profund, corespunzător nucleocapsidei şi altul de suprafaţă, legat de anvelopă. Aceste antigene permit clasificarea virusurilor gripale în mai multe tipuri (A, B, C - în funcţie de natura antigenului profund), fiecare tip având mai multe tulpini (deosebite între ele prin antigenul de suprafaţă labil). Apariţia unei tulpini noi, incriminată de declanşarea unei epidemii la un moment dat, se poate realiza prin simpla înlocuire a unui aminoacid din structura proteinelor anvelopei. Această instabilitate antigenică ce caracterizează virusurile gripale, poate explica lipsa de imunitate de lungă durată în cazul gripei. Situaţia nu apare şi la alte virusuri (ex. virusul rujeolei, oreionului), care sunt foarte stabile şi dau o imunitate, de regulă, pe viaţă.

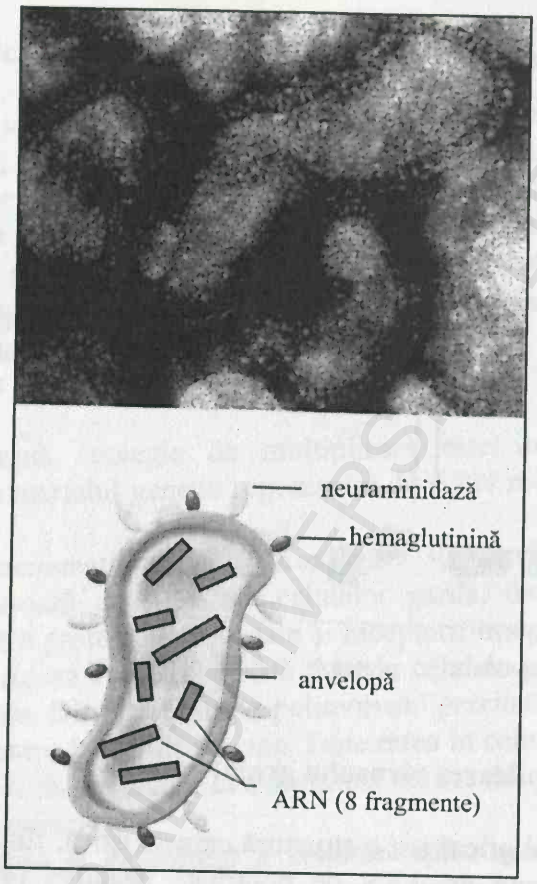


Fig. 149 – Structura virusului gripal: a - imagine electronomicroscopică; b - schemă (după Madigan, Martinko, Parker 2000)

În ciclul de multiplicare al virusului gripal există aceleaşi etape întâlnite la celelalte virusuri:

Adsorbţie şi penetraţie

În structura anvelopei virusului gripal, pe lângă alţi constituenţi, există şi două componente proteice specifice (Fig. 149): **hemaglutinina** (cu afinitate pentru mucopolizaharidele de pe suprafaţa celulelor animale) şi o enzimă numită **neuraminidaza.** Ataşarea virionilor gripali de celulele tractului respirator este rezultatul interacţiunii dintre hemaglutinină şi receptorii mucopolizaharidici de pe suprafaţa celulelor. În faza iniţială, ataşarea este reversibilă, fiind contrabalansată de acţiunea neuraminidazei care distruge receptorii de care ar trebui să se fixeze hemaglutinina. Acest fenomen poartă numele de eluţie şi prezintă importanţă în cazul hematiilor care, prin eluarea repetată a virionilor, pot

deveni neaglutinabile pentru aceştia. În cazul infecţiilor naturale sau în culturile de celule, după adsorbţia virionului gripal urmează imediat şi penetraţia, deoarece fenomenul de eluţie nu mai are timp să se producă. Pătrunderea virusului în celula gazdă se realizează prin endocitoză.

După pătrundere, întregul virion este încorporat într-o vacuolă intracitoplasmatică, printr-un mecanism asemănător fagocitozei. În citoplasmă, vacuola se deschide şi începe procesul de decapsidare, care duce la eliberarea ARN-ului infecţios şi la activarea ARN polimerazei.

Faza de eclipsă şi de sinteză a constituenţilor virali

După aproximativ 2-3 ore de la debutul infecţiei se pot evidenţia în citoplasma celulei gazdă primii constituenţi ai virionului. Sinteza nucleocapsidei şi a anvelopei se desfăşoară independent în două regiuni diferite ale celulei: ARN-ul viral se sintetizează în nucleu iar proteinele capsidale în citoplasmă de unde, ulterior vor migra spre nucleu.

Replicarea ARN-ului viral începe în nucleu prin transcrierea informaţiei genetice în ARNm care migrează ulterior în citoplasmă. Aici are loc sinteza a zece proteine codificate de cele opt fragmente ale genomului viral. O parte din aceste proteine sunt implicate în replicarea ARN-ului viral, altele sunt proteine structurale.

În ansamblu, strategia de replicare a ARN-ului viral gripal este aseamănătoare cu cea întâlnită la celelalte virusuri cu ARN monocatenar de polaritate negativă, în sensul că iniţial are loc sinteza unei catene complementare „+" pe seama căreia se vor forma catenele „-" (Fig. 150).

Asamblarea virionului gripal se realizează în două etape:

- organizarea nucleocapsidei;
- încorporarea ei în anvelopă.

La sfârşitul procesului de asamblare, care are loc în nucleul celulei gazdă, nucleocapsidele străbat membrana nucleară, migrând prin citoplasmă spre periferia celulei unde se acumulează şi ceilalţi constituenţi virali sintetizaţi. În membrana plasmatică sunt integrate două componente codificate de genele virale: hemaglutinina şi neuraminidaza, astfel încât, în momentul în care particula virală proeminează prin membrană, cei doi constituenţi vor intra în structura anvelopei. Prin proeminarea particulei virale la nivelul membranei plasmatice se formează un mugure viral ce reprezintă practic particula virală complet constituită.

Eliberarea din celulă constă în separarea mugurilor virali de membrana citoplasmatică a celulei gazdă. Uneori, virionul eliberat poate

rămâne ataşat de mucopolizaharidele de pe suprafaţa celulei, până când intervine fenomenul de eluţie declanşat de neuraminidază. Acest mecanism de eliberare a virusului gripal nu produce leziuni celulare ireparabile deoarece, pe ansamblu, seamănă cu un proces prin care o celulă normală eliberează, la anumite intervale de timp, fragmente din citoplasmă (clasmatoză). Celula gazdă supravieţuieşte eliberării virionilor gripali, însă metabolismul ei este profund perturbat astfel încât, la final, lizează.

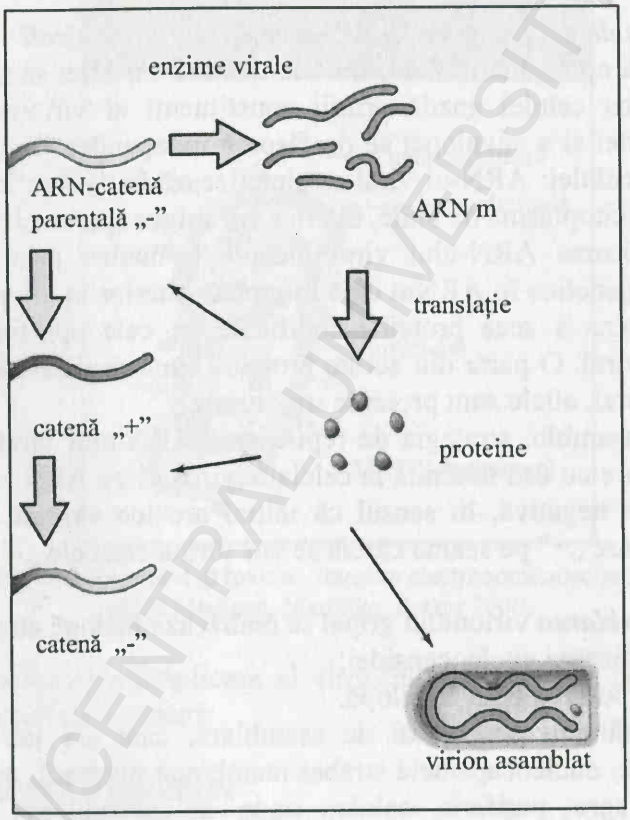


Fig. 150 – Strategia de multiplicare a virusurilor ARN cu catenă „-"

9.7.3. Consecinţe ale infecţiei virale asupra celulelor animale

Virusurile pot avea diferite efecte asupra celulelor animale pe care le infectează (Fig. 151).

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

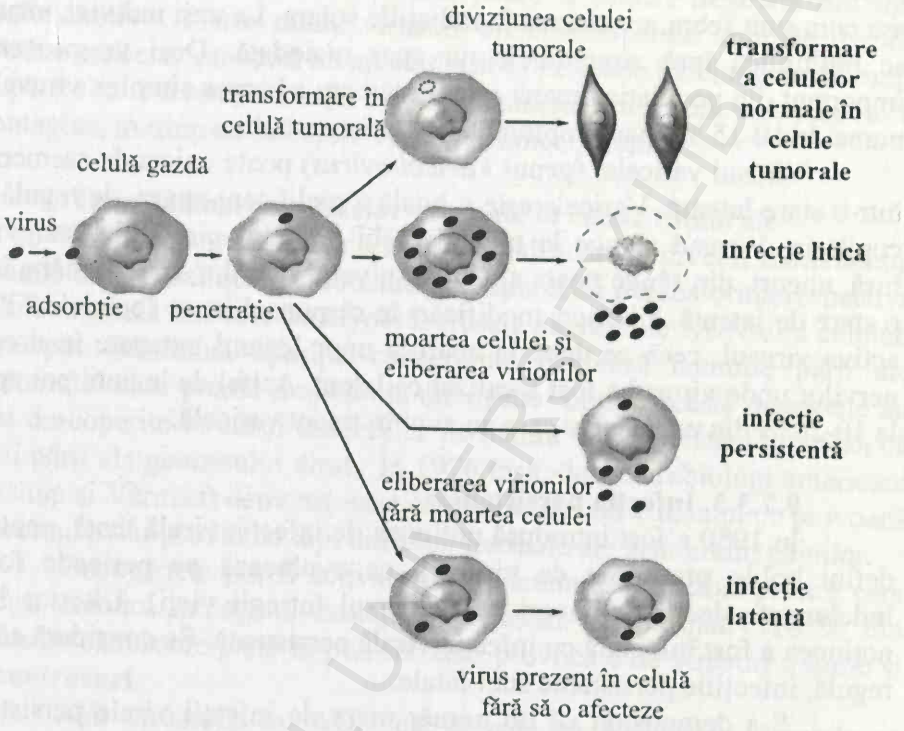


Fig. 151 – Efecte posibile ale virusurilor asupra celulelor animale

9.7.3.1. Infecția litică

Majoritatea virusurilor sunt eliberate din celula gazdă prin liza acesteia, mecanism ce duce la moartea celulei. Din acest motiv, această infecție provocată de virusuri în celulele animale poartă numele de infecție litică.

9.7.3.2. Infecția latentă

Unele virusuri pot rămâne într-o stare de echilibru cu celula infectată, fără să apară simptome ale bolii pentru perioade foarte îndelungate de timp, infecția fiind în acest caz una latentă. Un exemplu în acest sens îl constituie toate herpesvirusurile umane, care pot rămâne în interiorul celulei gazdă pe parcursul întregii vieți a individului. Când herpesvirusurile sunt însă reactivate de imunodeficiență (ex. SIDA) rezultatele infecției pot fi fatale.

Un exemplu clasic de infecție latentă este cea determinată la nivelul pielii de herpes simplex virus, manifestată prin leziuni cutanate. În mod obișnuit, virusul se localizează în celulele nervoase fără a

provoca manifestări evidente, până când este activat de o serie de stimuli aşa cum sunt febra, expunerea la radiaţiile solare. La unii indivizi, virusul se multiplică însă simptomele nu apar niciodată. Deşi un procentaj important din populaţia umană este purtătoare a herpes simplex virusului, numai la 10-15 % apar simptome caracteristice bolii.

Virusul varicelei (genul *Varicellovirus*) poate exista de asemenea, într-o stare latentă. Varicela este o boală a pielii care apare, de regulă, în copilărie. Virusul ajunge la nivelul pielii pe calea circulaţiei sangvine, însă, uneori, din sânge poate ajunge la nivelul nervilor unde rămâne într-o stare de latenţă. Ulterior, modificări în răspunsul imun (celulele T) pot activa virusul, ceea ce duce la apariţia unor leziuni cutanate în dreptul nervilor unde virusul a fost localizat ca latent. Astfel de leziuni pot apare la 10-20 % din persoanele care au avut în trecut varicelă.

9.7.3.3. Infecţia persistentă

În 1950 a fost introdusă noţiunea de infecţie virală lentă, pentru a defini bolile provocate de virusuri, ce evoluează pe perioade foarte îndelungate de timp (uneori pe parcursul întregii vieţi). Ulterior însă, noţiunea a fost înlocuită cu infecţie virală persistentă. Se consideră că, de regulă, infecţiile persistente sunt fatale.

S-a demonstrat că un număr mare de infecţii virale persistente sunt de fapt provocate de virusuri obişnuite. De exemplu, la câţiva ani după ce a cauzat pojarul, virusul (*Morbillivirus*) poate fi responsabil de o formă rară de encefalită.

9.7.3.4. Virusurile şi cancerul

Unele virusuri ale animalelor au capacitatea de a modifica o celulă normală într-una tumorală sau canceroasă. Astfel de virusuri se numesc **tumorale** sau **oncogene**, iar efectul lor asupra celulei este numit **transformare.**

Relaţia dintre cancer şi virusuri a fost demonstrată încă din 1908, când doi microbiologi danezi Wilhelm Elerman şi Olaf Bang au încercat să izoleze agentul cauzal al leucemiei de la puii de găină. Cei doi au observat că leucemia poate fi provocată prin inocularea la puii sănătoşi a filtratelor celulare care conţin virusuri. Trei ani mai târziu, Peyton Rous a descoperit că sarcoma (sarcomul=cancerul ţesutului conjunctiv neepitelial), de la puii de găină, poate fi transmisă prin mecanisme similare. În 1936 este descoperit la şoareci adenocarcinomul (cancerul care afectează ţesutul glandular epitelial) şi faptul că virusul poate fi transmis de la mamă la pui prin lapte. În 1972, Sarah Stewart descoperă primul virus care poate cauza cancer la om (Tortora, Funke, Case, 2002).

Originea virală a cancerului poate fi uneori neglijată din mai multe motive: foarte multe virusuri infectează celule animale dar nu produc cancere; cancerul nu apare decât la perioade îndelungate de timp, după ce a survenit infecția virală; cancerul ca boală nu pare a fi contagios, în timp ce infecțiile virale, de obicei, sunt.

Transformarea celulelor normale în celule tumorale

Orice factor care poate induce modificări la nivelul materialului genetic al unei celule eucariote are potențialul de a transforma respectiva celulă normală într-una canceroasă. Aceste alterări ale ADN-ului celular, care pot determina apariția cancerului, afectează anumite părți ale genomului care poartă numele de oncogene. Inițial, aceste oncogene au fost descoperite în cazul cancerelor de natură virală, existând ipoteza că ar fi părți ale genomului viral. În 1976 însă, doi microbiologi americani (Bishop și Varmus) demonstrează că genele *src* ale virusului ce provoacă sarcomul aviar provin de fapt din gene normale ale genomului găinilor.

Oncogenele pot fi activate de o varietate de factori printre care agenți chimici mutageni, radiații și virusuri. Aproximativ 10 % din tumorile cunoscute până în prezent sunt provocate de virusuri numite și **oncovirusuri**.

Atât virusurile cu ADN cât și cele cu ARN sunt capabile să inducă tumori la animale. O caracteristică importantă a tuturor oncogenelor este legată de faptul că materialul lor genetic se integrează în ADN-ul celulei gazdă, replicându-se odată cu cromozomul celulei. Acest mecanism este similar cu cel întâlnit în cazul lizogeniei de la bacterii, putând duce la modificarea caracteristicilor normale ale celulei gazdă.

După ce au fost transformate, multe celule tumorale prezintă antigene virale specifice fie la suprafață (TSTA), fie la nivelul nucleului – antigen T. Celulele transformate au tendința de a deveni mai puțin sferice decât celulele normale și de a manifesta o serie de aberații cromozomale (număr neobișnuit de cromozomi, cromozomi fragmentați etc.).

Virusurile oncogene cu ADN

Oncovirusurile cu ADN se caracterizează prin capacitatea lor de a transforma numai celulele nepermisive, respectiv acele celule care nu permit replicarea virală sau celulele în care ADN-ul viral rămâne defectiv. Celulele permisive (cele în care ADN-ul viral se replică) nu se malignizează și sunt ulterior distruse.

Dintre familiile de virusuri cu ADN (care includ şi oncovirusurile) amintim: *Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Poxviridae*, *Papovaviridae* şi *Hepadnaviridae*. Dintre papovavirusuri, papillomavirusurile sunt responsabile de cancerele uterine (cervicale). Genul *Lymphocryptovirus* (familia *Herpesviridae*) include virusul EB (Epstein Barr), responsabil de mononucleoza infecţioasă şi de două cancere la om: limfomul Burkitt şi carcinomul nazofaringian. Unii cercetători consideră că virusul EB este responsabil şi de boala Hodgkin – un cancer al sistemului limfatic. Din familia *Hepadnaviridae,* genul *Hepadnavirus*, face parte un alt oncovirus: virusul hepatitei B (VHB). Studiile efectuate la mai multe animale a demonstrat clar implicarea virusului hepatitei B în cancerele hepatice. Aproape toţi pacienţii umani diagnosticaţi cu cancer hepatic au suferit infecţii precedente cu virusul hepatitei B. Mai mult, aceleaşi studii au demonstrat că riscul dobândirii unui cancer hepatic este de peste 98 ori mai mare la pacienţii care au avut infecţii precedente cu VHB decât la cei neinfectaţi.

Virusurile oncogene cu ARN

Oncovirusurile cu ARN se replică în celulele în care pătrund fără a le distruge, transformând atât celulele permisive cât şi pe cele nepermisive. Dintre virusurile cu ARN, numai cele din familia *Retroviridae* au capacitatea de a induce tumori. Ele pot provoca leucemii, sarcoame şi tumori mamare.

Capacitatea retrovirusurilor de a induce cancere este strâns legată de capacitatea lor de a produce reverstranscriptază. Provirusul, reprezentat de molecula de ADN dublucatenară, sintetizată pe seama ARN-ului viral, se poate integra în ADN-ul celulei gazdă. Noul material genetic este introdus în genomul celulei infectate, acesta fiind şi principalul mecanism prin care retrovirusurile pot induce cancerul. Unele retrovirusuri pot conţine oncogene; altele conţin promotori care duc la activarea unor oncogene sau a altor factori ce pot induce cancerul.

Virusurile defective

Conceptul de virus defectiv a fost introdus de Hanafusa şi Rubin în 1963 pentru a defini un virus care, pătruns într-o celulă gazdă, nu-şi poate duce ciclul de multiplicare până la producerea de virioni maturi decât în prezenţa unui virus auxiliar sau asociat numit **virus helper**. Acest fenomen a fost descris la o mutantă a virusului sarcomului Rous – tulpina Bryan. Acest virus produce în mod normal o tumoare a muşchiului pectoral la găină. S-a constatat că virusul produce transformarea celulelor normale în celule tumorale fără însă a se

evidenția în aceste celule și virioni. Dacă aceste celule se suprainfectează cu virusul leucozic aviar, înrudit antigenic cu virusul sarcomului Rous, se constată apariția în celulele tumorale atât a virionilor virusului sarcomului Rous cât și a virionilor virusului leucozic aviar. În această situație, virusul leucozic aviar funcționează ca virus helper.

S-a demonstrat astfel că în celulele infectate cu un virus defectiv, acidul nucleic viral se integrează în genomul celulei gazdă, producând transformarea acesteia, fiind însă incapabil să-și formeze proteinele capsidale și implicit virionii. Virusul helper este acela care induce sinteza proteinelor capsidale ce vor fi puse la dispoziția acidului nucleic al virusului sarcomului Rous. Până în prezent se cunosc mai multe cazuri de virusuri defective și virusuri helper.

Interferonii

Descoperirea interferonilor este legată de numele lui Isaacs și Lindenmann în 1952. Pot fi definiți ca un grup de proteine antivirale care pot induce sinteza unor enzime și proteine ce blochează replicarea virală prin inhibarea traducerii ARNm în proteine virale. În afară de efectele antivirale, interferonii au deopotrivă și alte proprietăți biologice, în special antitumorale și imunomodulatoare.

Interferonii sunt substanțe de natură glicoproteică, ce conțin lanțuri polizaharidice cu acizi sialici terminali și cu greutate moleculară variabilă.

Capacitatea de a produce interferon este o proprietate generală a tuturor tipurilor de celule provenite de la vertebrate. De exemplu, o caracteristică deosebit de interesantă o au limfocitele care, ca și celelalte tipuri de celule, pot fi stimulate de infecția cu un virus să producă interferon.

La om se cunosc mai multe tipuri de interferon:

- α – sintetizat predominant de leucocite;
- β – produs mai ales de fibroblaste; poate fi obținut în cantitate mai mare datorită capacității acestor celule de a se înmulți rapid;
- γ – sintetizat de limfocitele T.

Interferonii sunt considerați ca prima linie a sistemului de apărare a organismului, atunci când se instalează o infecție virală. Ei sunt folosiți în tratamentul bolilor de origine virală de la banala gripă până la boli grave ca: rabie, hepatite, herpes ocular, cancere. Dincolo de rolul său în stimularea sistemului imunitar, interferonul poate să și inhibe înmulțirea celulelor anormale, ceea ce ar putea explica activitatea sa antitumorală.

Utilizarea sa în practică se loveşte la ora actuală de dificultăţile mari legate de obţinerea cantităţilor mari necesare unui tratament eficient şi de purificare. Principalele surse de interferon sunt leucocitele normale, însă producerea este complicată şi foarte costisitoare. Se apreciază că obţinerea interferonului în cantităţi mari va fi realizată în viitor prin producerea lui masivă de către bacteria *Escherichia coli*, la care s-au transferat genele care codifică sinteza interferonului în celulele umane, prin tehnici de inginerie genetică.

9.7.4. Virusul HIV

În 1981 a fost descris pentru prima dată la om un sindrom ce implica o deficienţă a sistemului imunitar. Această boală era însoţită de apariţia unor infecţii oportuniste şi de o formă anormală de cancer al pielii numit sarcomul Kaposi. Deşi s-a presupus iniţial că agentul cauzal este un virus, el a fost evidenţiat abia mai târziu, în 1984, de către un grup de microbiologi francezi condus de Luc Montagnier. În 1986, virusul a primit denumirea actuală de **virusul imunodeficienţei umane (HIV)**, iar boala a fost numită **sindromul imunodeficienţei dobândite (SIDA)**.

Virusul imunodeficienţei umane este un retrovirus sferic, de 80-130 nm, cu un miez sub forma unui trunchi de con şi un genom reprezentat prin 2 molecule de ARN. În genomul său, HIV mai conţine şi moleculele unei enzime numită reverstranscriptază.

Prezintă o capsidă cu simetrie icosaedrică, prevăzută cu o anvelopă cu 72 de spiculi măciucaţi, formaţi din proteinele majore ale învelişului viral: gp120 şi gp transmembranară 41 (Fig. 152).

Infecţia cu HIV se realizează cel mai frecvent prin contact sexual, de la mamă la făt sau prin sângele infectat şi poate parcurge două etape:

- infecţia primară – poate dura aproximativ 10 ani, include răspândirea virusului în organele limfatice, sistemul fagocitic mononuclear, latenţa clinică şi inducţia expresiei virale;
- sindromul imunodeficienţei dobândite – cu o evoluţie letală în aproximativ doi ani.

Celulele gazdă normale pentru HIV sunt celulele T helper şi macrofagele sistemului imunitar. Din acest motiv, infecţia cu HIV duce la scăderea răspunsului imun, crescând riscurile ca gazda să dobândească infecţii cu patogeni oportunişti şi diverse tipuri de cancere, similar cu pacienţii care au alte tipuri de imunodeficienţe. Celulele T helper poartă

situsuri receptoare CD4, ca de altfel şi alţi coreceptori, de care se ataşează HIV pe parcursul replicării sale.

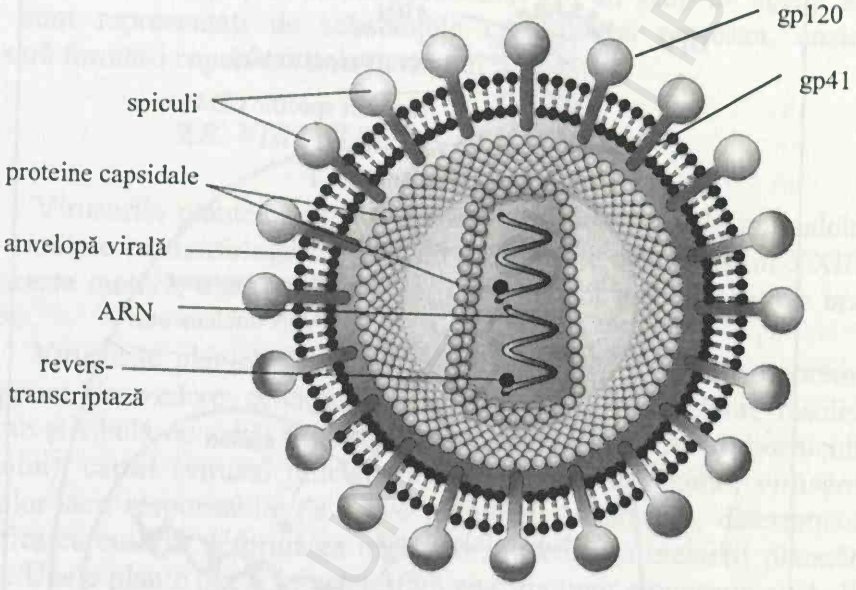


Fig. 152 – Structura virusului imunodeficienţei umane (HIV)

După decapsidare, când ARN-ul viral este eliberat în citoplasma celulei gazdă, reverstranscriptaza sintetizează o catenă de ADN, având ca matriţă catena de ARN (virusurile la care are loc o inversare a modului obişnuit de transfer a informaţiei genetice poartă numele de retrovirusuri). Pe baza catenei de ADN astfel sintetizate, numită provirus, se sintetizează ulterior ADN-ul dublu catenar care se integrează în ADN-ul celulei gazdă de unde va transcrie mesajul său genetic în noi virioni HIV. Particulele virale sunt eliberate din celulă prin înmugurire, putând să infecteze în continuare alte celule sănătoase (Fig. 153).

Pentru o anumită perioadă de timp, organismul uman poate face faţă infecţiei cu HIV, înlocuind celulele infectate pe măsură ce acestea sunt distruse. Ulterior însă, organismul bolnav suferă un declin al numărului de celule T care scade de la 1000/ml sânge până la 100/ml. Ca urmare a acestui fapt încep să apară infecţiile cu patogenii oportunişti: pneumonii provocate de *Pneumocystis carinii*, sarcomul Kaposi, infecţii cu *Candida albicans* şi citomegalovirus, tuberculoză, criptococoză etc. Boala se manifestă prin diaree, leziuni cutanate, febră, umflarea nodulilor limfatici, oboseală, scăderea masei musculare. Pe măsură ce boala

progresează, apar o serie de tulburări de factură neurologică, incluzând pierderi de memorie, demență etc.

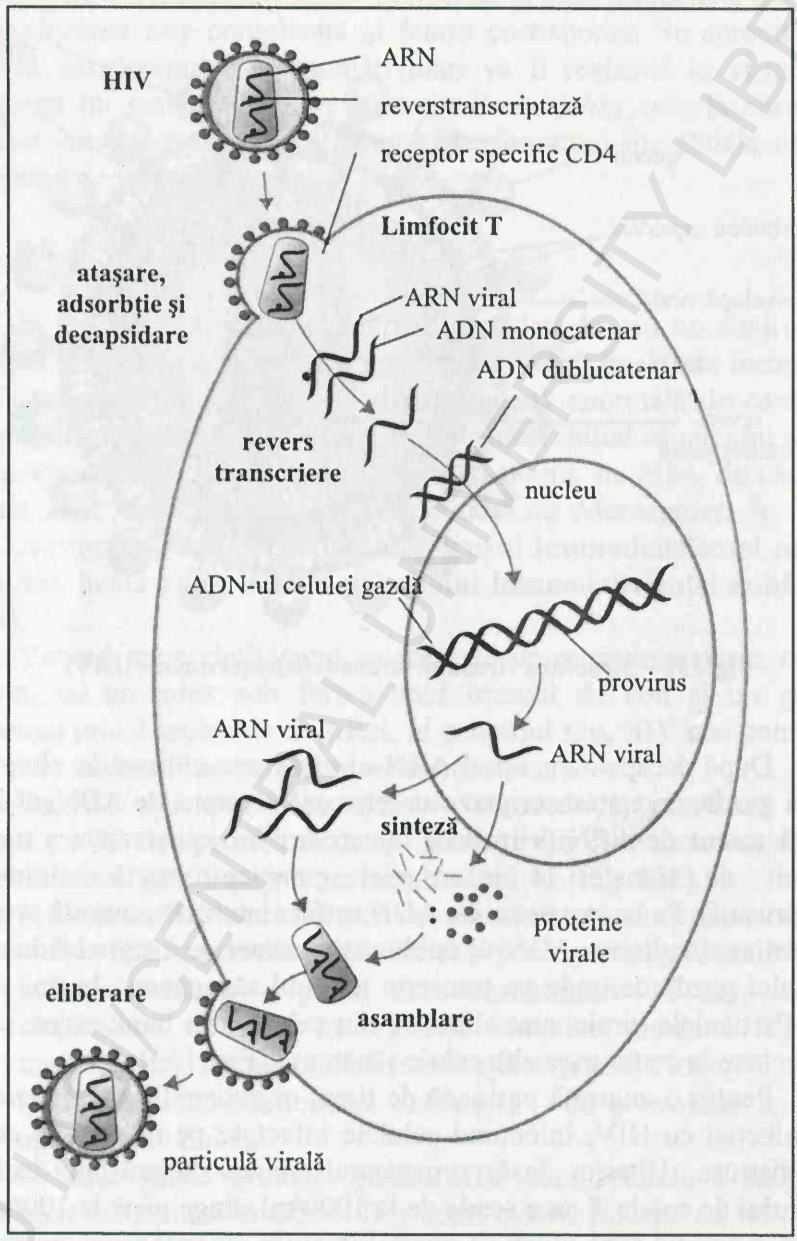


Fig. 153 – Replicarea HIV

Pentru diagnosticare s-au pus la punct o serie de teste dintre care amintim: ELISA, Western blot, imunofluorescență indirectă, PCR.

BCU "LUCIAN BLAGA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tratamentul bolii se poate realiza cu o serie de substanțe care acționează ca inhibitori pentru reverstranscriptază: azidotimina (AZT)-inhibă sinteza ADN, dideoxinozina și dideoxicitidina similare ca efect cu primul, dar cu mai puține efecte secundare. Un alt grup de agenți anti HIV sunt reprezentați de substanțele care inhibă proteaza, enzimă necesară formării capsidei virale în timpul replicării.

9.8. VIRUSURILE PLANTELOR

Virusurile plantelor seamănă foarte mult cu cele ale animalelor, fiind similare ca morfologie, tipul acidului nucleic etc. (Tabelul XXIII). Din aceste motive, unele virusuri ale plantelor pot infecta celulele unor insecte.

Virusurile plantelor produc boli la o serie de culturi importante din punct de vedere economic: fasole (virusul mozaicului fasolei), porumb și sfeclă de zahăr (virusuri tumorale), tutun (virusul mozaicului tutunului), cartof (virusul piticismului la cartof). În general, virusurile plantelor sunt responsabile de grave prejudicii economice, determinând modificarea culorii, deformarea organelor, încetinirea creșterii plantelor gazdă. Unele plante pot fi infectate fără apariția unor simptome ale bolii. În aceste situații, gazdele constituie rezervoare de infecție.

Tabelul XXIII – Clasificarea principalelor virusuri ale plantelor

Familie	Reprezentanți	Caracteristici	Mod de transmitere
Papovaviridae	Virusul mozaicului conopidei	AND dublucatenar, fără anvelopă	afide
Picornaviridae	Virusul mozaicului fasolei	ARN monocatenar, „+", fără anvelopă	polen
Tetraviridae	*Tobamovirus*	ARN, fără anvelopă	răni
Rhabdoviridae	Virusul piticismului la cartof	ARN monocatenar „-", cu anvelopă	afide

În general, celulele vegetale sunt ferite de infecția cu virusuri datorită prezenței unui perete celular rezistent și impermeabil. Din acest motiv, pentru a putea pătrunde în celulele gazdă, virusurile folosesc fie răni ale țesuturilor vegetale fie pot pătrunde ajutate de paraziți ai plantelor (nematode, fungi și cel mai frecvent insecte). Odată ce o plantă a fost infectată, boala se poate transmite cu ușurință și la alți indivizi prin intermediul polenului sau semințelor.

În condiții de laborator, virusurile plantelor pot fi cultivate în protoplaşti (celule vegetale lipsite de perete celular) sau în culturi de celule provenite de la insecte.

9.9. VIROIZII ŞI PRIONII

La unele plante pot să apară o serie de boli, care sunt provocate de fragmente mici de ARN cu o lungime de doar 300-400 nucleotide, lipsite de înveliş proteic ce se numesc **viroizi**. Frecvent, nucleotidele sunt împerecheate intern, astfel încât molecula de ARN prezintă o structură tridimensională, închisă, împachetată, fiind protejată de atacul enzimelor celulelor gazdă. Moleculele de ARN nu codifică nici un fel de proteină, ele fiind responsabile de boli apărute numai la plante. Anual, bolile provocate de viroizi, cum ar fi viroidul alungirii tuberculului de cartof produc pagube economice însemnate (Fig. 154).

Ultimele studii efectuate asupra viroizilor au scos în evidență o serie de asemănări la nivelul secvențelor de baze azotate între viroizi şi **introni** (secvențe de material genetic ce nu codifică sinteza unor polipeptide). Aceste observații au dus la ipoteza că viroizii provin din introni, ipoteză ce a permis apariția de speculații conform cărora, în viitor, ar putea fi descoperiți şi viroizi la celulele animale.

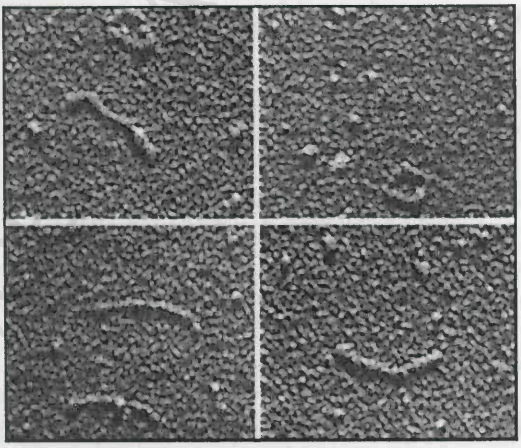


Fig. 154 – Viroidul alungirii tuberculului de cartof: imagine electronomicroscopică (după Tortora, Funke, Case, 2002)

În 1982, neurobiologul american Stanley Prusiner descoperă că unele proteine au capacitate infecțioasă şi pot provoca boli ale sistemului nervos la ovine. El observă că gradul de infectare al țesuturilor nervoase

scade în urma tratamentului cu proteaze, însă nu şi în cazul iradierii, ceea ce sugerează ideea că agentul infecţios în acest caz este reprezentat de proteine şi nu de virusuri. Prusiner a denumit particulele proteice infecţioase **prioni**.

Până în prezent sunt cunoscute aproximativ nouă boli care apar la animale şi care sunt provocate de prioni, inclusiv boala vacii nebune descoperită în Marea Britanie în 1987. Toate cele nouă boli afectează ţesutul nervos, fiind denumite generic encefalopatii spongiforme, deoarece duc la apariţia unor vacuole largi la nivelul creierului (Fig. 155).

Cele mai cunoscute boli provocate de prioni la om sunt boala Kuru, sindromul Creuzfeldt-Jacob şi sindromul Gertsmann-Sträusler-Scheinker. Astfel de boli apar cu frecvenţă mai ridicată de regulă, în cadrul aceleiaşi familii, fapt ce demonstrează o posibilă cauză genetică. Oricum, ele nu se transmit numai din generaţie în generaţie. De exemplu, în cazul sindromului Creuzfeldt-Jacob boala poate fi transmisă odată cu ţesuturile nervoase transplantate sau prin intermediul instrumentelor chirurgicale infectate, iar boala vacii nebune poate fi transmisă la om prin consumul de carne insuficient preparată termic.

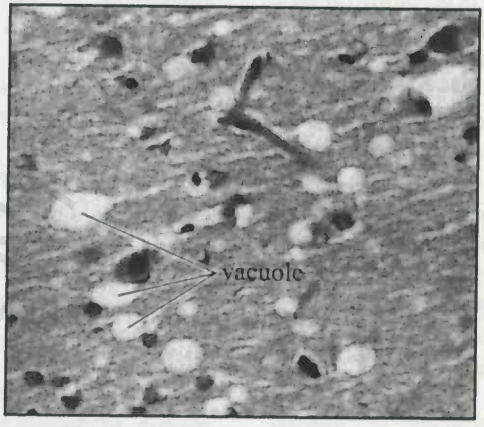


Fig. 155 – Aspectul ţesutului nervos în cazul encefalopatiei spongiforme: imagine la microscopul optic (după Madigan, Martinko, Parker 2000)

Una din ipotezele care încearcă să explice modul prin care o proteină lipsită de acid nucleic poate dobândi capacităţi infecţioase este prezentată în Fig. 156. În 1990 specialiştii au demonstrat că prionii sunt la origine versiuni inofensive ale unor proteine localizate la suprafaţa membranei celulare a majorităţii celulelor de la mamifere. O astfel de proteină numită proteină-prion (notată cu PrP^c) este codificată de gene

prezente în mod normal în ADN-ul celulei gazdă. Injectarea în celulele sănătoase a unor proteine infecțioase (PrP^{Sc}) provenite din țesutul nervos al animalelor bolnave duce la transmiterea bolii. Acest lucru se realizează prin transformarea proteinelor normale PrP^{c} în proteine infecțioase PrP^{Sc}, care tind să se strângă în grupuri, astfel încât blochează transportul molecular la nivel celular. Nu se cunoaşte deocamdată mecanismul prin care se produce moartea celulară şi nici modul de replicare al prionilor în absența acidului nucleic.

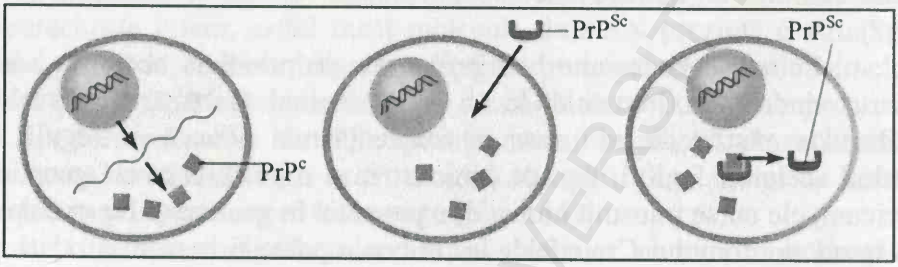


Fig. 156 – Transformarea proteinei PrP^{c} în proteină infecțioasă PrP^{Sc}

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

GLOSAR

A

Acceptor de electroni Compus care în cursul reacţiilor de oxidoreducere poate accepta electroni de la un alt compus, trecând astfel în stare redusă.

Acidofil Microorganism care creşte preferenţial la pH acid.

Acidorezistent Proprietatea speciilor care aparţin genului *Mycobacterium* de a rezista la decolorarea cu acid şi alcool în timpul colorației, datorită prezenţei mycolului în structura peretelui celular.

Actinomicete Grup de bacterii miceliene (filamentoase) care au corpul reprezentat de un miceliu unicelular.

ADP (adenozindifosfat) Compus rezultat în urma hidrolizei ATP, cu eliberare de energie.

Agar Polizaharid complex produs de algele marine, utilizat la prepararea mediilor de cultură, în vederea solidificării acestora.

Agent antimicrobian Substanţă care inhibă sau blochează creşterea microorganismelor.

Alcalifil Microorganism care creşte preferenţial la pH alcalin.

Amfitrichă Bacterie care prezintă flageli la ambii poli ai celulei.

Anaerob aerotolerant Microorganism care nu utilizează O_2, dar poate creşte şi în prezenţa lui.

Anoxigenic Mediu lipsit de O_2.

Antibiotic Agent antimicrobian produs în mod obişnuit de unele bacterii şi fungi.

Anvelopă Înveliş situat în jurul nucleocapsidei la unele virusuri (sin. peplos).

Archaeobacterii Grup de procariote, distinct de eubacterii, reprezentat de bacterii adaptate la condiţii de viaţă acvatice şi terestre extreme.

Arthrospor Spor format în urma fragmentării hifelor miceliene.

ATP (adenozintrifosfat) Compus macroergic prin scindarea căruia rezultă ADP, acid fosforic şi energie, fiind considerat o sursă importantă de energie intracelulară.

Autotrof Microorganism capabil să utilizeze CO_2 ca unică sursă de carbon.

Auxotrof Microorganism incapabil de a-şi sintetiza metaboliţii esenţiali, fiind lipsit de sisteme enzimatice, motiv pentru care se dezvoltă numai în mediile în care aceşti metaboliţi există preformaţi.

B

Bacil Bacterie de formă cilindrică, asemănătoare unui bastonaş.

Bacilul Koch Bacterie denumită ştiinţific *Mycobacterium tuberculosis* - agentul etiologic al tuberculozei.

Bactericid Agent fizic sau chimic care produce moartea bacteriilor.

Bacterie Organism procariot unicelular.

Bacterii nesulfuroase purpurii Grup de procariote fotoheterotrofe ce conţin bacterioclorofilele a sau b şi au o toleranţă scăzută pentru H_2S.

Bacterii sulfuroase purpurii Grup de procariote fototrofe ce conţin bacterioclorofilele a sau b şi au capacitatea de a oxida H_2S şi sulful elementar în interiorul sau în exteriorul celulei.

Bacterioclorofilă Pigment clorofilian prezent la bacteriile fototrofe anoxigenice.

Bacteriofag Virus care infectează bacteriile.

Bacteriofag temperat (fag temperat) Virus al cărui genom este integrat în genomul bacteriei gazdă cu care se replică sincron (sin. profag).

Bacteriostatic Agent fizic sau chimic care inhibă creşterea şi multiplicarea bacteriilor fără a le distruge.

Bioconversie În sens microbiologic, reprezintă utilizarea microorganismelor în convertirea unui compus organic în alt compus.

Biotehnologii microbiene Utilizarea microorganismelor în procesele industriale, în scopul obţinerii unor produşi utili.

C

Capsidă Înveliş proteic care înconjoară acidul nucleic al unui virus.

Capsomere Subunităţi proteice ale capsidei virale.

Capsulă Înveliş de natură polizaharidică sau polipeptidică situat la exteriorul peretelelui celular al unor bacterii.

Carboxifilă Bacterie heterotrofă care necesită pentru creştere cantităţi de CO_2 mai mari decât cele din atmosferă.

Carboxizomi Incluziuni citoplasmatice poliedrice, ce conţin ribulozo-1,5 difosfatcarboxilaza, enzima cheie implicată în fixarea CO_2.

Catabolism Succesiunea reacţiilor biochimice prin care se realizează degradarea substanţelor nutritive cu eliberarea de energie (ATP).

Chemoautotrof Microorganism care utilizează compuşii anorganici ca sursă de energie.

Chemoheterotrof Microorganism care utilizează compuşii organici ca sursă de energie.

Chemostat Aparat care asigură cultivarea continuă a microorganismelor, în care atât rata de creştere cât şi numărul de celule pot fi controlate independent.

Chemotaxie Fenomen de atragere (chemotactism pozitiv) sau respingere (chemotactism negativ) a unor bacterii, ca răspuns la acţiunea unor stimuli chimici.

Chlamidie Bacterie de formă cocoidă, Gram-negativă, parazită obligatoriu intracelular.

Chlorobacterii Grup de bacterii fototrofe anoxigenice ce conţin bacterioclorofilele c,d sau e.

Coc Bacterie de formă sferică, ovală sau reniformă.

Cocobacil Bacterie cu formă intermediară între coc şi bacil.

Coliformi Grup de bacterii Gram-negative, de formă bacilară, nesporulate, necapsulate, aerobe sau facultativ anaerobe, cu capacitatea de a fermenta lactoza cu producere de acid şi gaz în 48 ore la 35^0 C.

Colonie Populaţie celulară vizibilă macroscopic, dezvoltată pe un mediu de cultură solid, provenind din multiplicarea uneia sau mai multor celule, aparţinând aceleiaşi specii sau tulpini bacteriene.

Conjugare Transferul materialului genetic de la o bacterie donor la alta, acceptor, prin contactul intercelular direct.

Contaminat Suprafaţă inertă sau vie pe care se află microorganisme, substanţe chimice sau radioactive.

Corpi de fructificare Structuri de reproducere, macroscopice, produse de unele mixobacterii.

Cortex Zonă electronotransparentă din interiorul endosporului, delimitată la exterior de tunicile sporale iar la interior de sporoplasmă.

Creştere În sens microbiologic, reprezintă mărirea numărului de celule.

Creştere exponenţială Dublarea numărului de celule bacteriene într-o perioadă determinată de timp (sin. creştere logaritmică sau fază de log).

Cromatofor Invaginare a membranei plasmatice sub formă de vezicule sau sisteme lamelare care conţin bacterioclorofile; prezent la bacteriile fotoautotrofe.

Cromozom Element genetic purtător al informaţiei ereditare, reprezentat de o moleculă de ADN, de obicei circulară la procariote şi lineară la eucariote.

Cultură Totalitatea celulelor bacteriene rezultate în urma creşterii şi multiplicării într-un mediu de cultură.

D

Denitrificare Proces de reducere a nitraţilor la nitriţi sau azot gazos în condiţii anoxigenice.
Diplococi Coci grupaţi în perechi.
Diviziune binară Modalitate de multiplicare a celulelor procariote prin separarea celulei mamă în două celule fiice.
Donor de electroni Compus care în cursul reacţiilor de oxidoreducere poate dona electroni unui acceptor de electroni, trecând în stare oxidată.

E

Endospor Formă de rezistenţă care apare în interiorul celulei bacteriene, de regulă la bacilii Gram-pozitivi.
Enteric Intestinal.
Enterobacterii Grup de bacili Gram-negativi, anaerobi- facultativ aerobi, cu habitat în intestin.
Entner-Doudoroff, ciclu Cale metabolică alternativă a glicolizei, de oxidarea a glucozei la acid piruvic.
Enzimă Proteină care catalizează o reacţie chimică specifică.
Eubacterii Grup de microorganisme procariote care include bacteriile adevărate.
Eucariot Organism viu format din una sau mai multe celule care posedă un nucleu tipic, cu membrană nucleară, cromozomi capabili de mitoză şi meioză.

F

Factori de creştere Metaboliţi esenţiali (aminoacizi, baze purinice şi pirimidinice, vitamine) pe care unele bacterii nu îi pot sintetiza şi trebuie adăugaţi în mediul de cultură.
Facultativ Capacitatea unui microorganism de a creşte în prezenţa sau absenţa unui factor de mediu.
Fastidioasă Bacterie care necesită prezenţa a numeroşi factori de creştere în mediul de cultură.
Fermentaţie Proces de oxidoreducere biologică, producător de energie, în care un compus organic serveşte atât ca donator cât şi ca acceptor de electroni, având loc în condiţii de anaerobioză sau aerobioză.
Filament axial Element structural care asigură mobilitatea spirochetelor.
Fimbrii Structuri filamentoase, rigide, scurte, dispuse peritrich, cu rol în aderarea celulelor bacteriene la diferite suprafeţe şi în formarea peliculelor.
Flagel Apendice lung, subţire şi flexuos cu rol în mobilitatea bacteriilor.
Fotoautotrof Microorganism care utilizează lumina ca unică sursă de energie şi CO_2 ca unică sursă de C.
Fotofosforilare Proces de producere a ATP în fotosinteză.
Fotoheterotrof Microorganism care utilizează lumina ca unică sursă de energie şi compuşii organici ca unică sursă de C.
Fotosinteză Conversia energiei luminoase în energie chimică.
Fotosinteză anoxigenică Fotosinteză în care nu se formează O_2.
Fotosinteză oxigenică Fotosinteză în care se formează O_2.
Fototactism Fenomen de atragere (fototactism pozitiv) sau respingere (fototactism negativ) a unor bacterii ca răspuns la acţiunea luminii.
Fung Microorganism eucariot, chemoheterotrof, cu perete celular rigid, care aparţine regnului Fungi.

G

Germinare Fenomen de transformare a sporului în celulă vegetativă, respectiv trecerea sporului din stare dormantă,

metabolic inactivă la starea metabolic activă.

Glicocalix Înveliş reprezentat de filamente polizaharidice, glicoproteice şi glicolipidice ataşate de lipopolizaharidele prezente la suprafaţa bacteriilor Gram-negative.

Glicoliză Cale metabolică de oxidare a glucozei la piruvat numită şi calea Embden-Meyerhof.

Gonococ Bacterie denumită ştiinţific *Neisseria gonorrhoeae*, diplococ Gram-negativ care produce la om gonoreea, infecţie cu transmitere sexuală.

Gram (colorație) Colorație diferențială a bacteriilor, descoperită de către Hans C.J. Gram (1853-1938), funcţie de care bacteriile se clasifică în două mari categorii: Gram-pozitive şi Gram-negative.

Gram-negativă Bacterie care în urma colorației Gram pierde culoarea violet în urma decolorării cu alcool-acetonă şi se recolorează în roşu cu fuxina.

Gram-pozitivă Bacterie care în urma colorației Gram rezistă la decolorarea cu alcool-acetonă, rămânând colorată în violet.

H

Halofil Microorganism care necesită pentru creştere NaCl.

Halofil extrem Microorganism a cărui creştere este dependentă de prezenţa NaCl în concentraţii mari (>10 %).

Hipertermofil Microorganism care se dezvoltă optim la temperatura de 80^0 C sau mai ridicată.

I

Incluziuni citoplasmatice Formaţiuni structurale ce conţin substanţe de rezervă prezente în citoplasma celulei bacteriene.

Incubare Menţinerea mediilor de cultură însămânţate în condiţii optime (temperatură, atmosferă), în vederea dezvoltării culturilor bacteriene.

Infecţie Pătrunderea în organism a unui agent patogen (virus, bacterie, fung), capabil să se multiplice şi să inducă leziuni.

Inocul Suspensie microbiană care se însămânţează pe un mediu de cultură artificial.

Interferon Proteină antivirală cu masă moleculară mică, produsă de celulele infectate cu virusuri, care inhibă multiplicarea virală prin blocarea sintezei acidului nucleic viral.

Î

Însămânţare Depunerea pe suprafaţa sau în profunzimea mediilor de cultură a unei cantităţi limitate de inocul, reprezentat de un produs biologic, o cultură microbiană sau o altă sursă (apă, sol etc.).

L

Latenţă Perioadă de inactivare a unui agent infecţios.

Levură Fung unicelular (sin. drojdie).

Lipopolizaharid (LPS) Structură lipidică complexă formată din glucide şi acizi graşi, constituind stratul superficial al membranei externe a peretelui celular la bacteriile Gram-negative.

Liză Distrugerea celulei şi eliberarea conţinutului celular, sub acţiunea unor agenţi fizici, chimici sau biologici.

Lizogenă Bacterie care găzduieşte un profag.

Lizogenic Profag care se replică sincron cu genomul celulei gazdă.

Lizozim Enzimă care produce hidroliza peptidoglicanului (mureinei) din peretele celular bacterian (sin. muramidaza).

Lizozom Organit celular ce conţine enzime hidrolitice cu rol în degradarea unor macromolecule şi a unor microorganisme fagocitate.

BUAS CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Lofotrichă Bacterie cu un smoc de flageli dispuşi polar.

M

Magnetozomi Incluziuni de Fe_3O_4 prezente la unele bacterii Gram – negative, conferindu-le proprietatea de a se orienta şi deplasa în câmpurile magnetice.
Mediu de cultură Substrat nutritiv de consistenţă lichidă, semisolidă sau solidă care asigură creşterea şi multiplicarea microorganismelor.
Meningococ Bacterie denumită ştiinţific *Neisseria meningitidis*, diplococ Gram-negativ care produce la om meningita cerebro-spinală epidemică.
Metabolism Totalitatea reacţiilor biochimice, atât anabolice cât şi catabolice din celulă.
Metanotrof Microorganism capabil să oxideze metanul.
Mezofil Microorganism pentru care temperatura optimă de dezvoltare variază între 30-40^0 C.
Mezozom Invaginare a membranei citoplasmatice a bacteriilor.
Miceliu Masă de filamente celulare, ramificate sau neramificate, septate sau neseptate, prezente la actinomicete (miceliu unicelular) şi la fungii filamentoşi (miceliu pluricelular).
Microaerofil Microorganism aerob care poate creşte numai atunci când presiunea oxigenului este inferioară celei atmosferice.
Microorganism Organism unicelular cu dimensiuni microscopice sau infra-microscopice, aparţinând procariotelor (bacterii, cianobacterii), eucariotelor (fungi microscopici, alge microscopice, protozoare) sau virusurilor.
Mixotrof Microorganism care utilizează în metabolism compuşii organici ca sursă de carbon, iar compuşii anorganici ca sursă de energie.
Monotrichă Bacterie cu un singur flagel dispus polar.
Mureină Sin. peptidoglican.
Mutaţie Modificare la nivelul secvenţelor bazelor azotate ale ADN celular apărută spontan sau indusă de diverşi agenţi mutageni.
Mutualism Relaţie de tip simbiotic între microorganisme, benefică pentru ambii parteneri.

N

N-acetilglucozamina Carbohidrat aminat caracteristic eubacteriilor, care intră în compoziţia peptidoglicanului.
Neutrofil Microorganism care creşte preferenţial la pH = 7.
Nitrificatoare Grup de bacterii chemo-autotrofe care produc conversia amoniacului la nitriţi sau nitraţi.
Nucleocapsidă Structură constituită dintr-un acid nucleic viral (ADN sau ARN) şi învelişul proteic numit capsidă.
Nucleoid Material nuclear la procariote.
Nutrient Substanţă preluată de celulă din mediu, utilizată în reacţiile catabolice şi anabolice.

O

Obligat aerob Microorganism care se dezvoltă numai în prezenţa O_2.
Obligat anaerob Microorganism care se dezvoltă numai în absenţa O_2.
Oncogen Factor care poate provoca o tumoră malignă.
Osmoză Difuzia apei prin membrana celulară de la o zonă cu concentraţie mai mică a soluţiei la o zonă cu o concentraţie mai mare.

P

Patogen Microorganism care provoacă o boală.
Peniciline Clasă de antibiotice β-lactamice care inhibă sinteza

peptidoglicanului din peretele celular bacterian.

Peplos sin. anvelopă.

Peptidoglican Polizaharid constituent al peretelui celular bacterian format din N-acetil-glucozamină şi acid N-acetil-muramic unite prin legături peptidice (sin. mureină).

Peritrichă Bacterie cu flageli localizaţi de jur împrejurul celulei.

Permează Proteină membranară cu rol în transportul activ.

Pili Filamente rigide prezente la unele bacterii Gram-negative; pot fi pili comuni, cu funcţii de ligand şi pili de sex, cu rol în conjugarea bacteriană.

Piocianină Pigment albastru produs de *Pseudomonas aeruginosa* (bacilul piocianic).

Plasmid Fragment de ADN extra-cromozomal, circular, prezent la bacterii, capabil de replicare autonomă.

Poli-β-hidroxibutirat Incluziuni de rezervă ale celulei procariote, constituite dintr-un polimer de β-hidroxibutirat sau alt acid alkanoic.

Polimorfism Existenţa la aceeaşi specie a unor tipuri diferite de celule.

Poxvirus Virus cu ADN de dimensiuni mari şi cu o structură complexă.

Prespor Structură formată în cursul sporogenezei, constituită din cromozom, citoplasmă şi tunici sporale care apar în interiorul celulei vegetative.

Prion Particulă infecţioasă de natură proteică, lipsită de acid nucleic.

Procariot Organism unicelular la care materialul nuclear este lipsit de membrană nucleară, fiind format dintr-un singur cromozom, reprezentat de o moleculă de ADN circulară.

Profag Genomul unui virus temperat care este integrat în genomul celulei gazdă, replicându-se sincron cu acesta (sin. provirus).

Protoplast Celulă sferică rezultată în urma distrugerii peretelui celular la o bacterie Gram-pozitivă.

Prototrofă Bacterie capabilă să-şi sintetizeze toţi metaboliţii esenţiali pentru creştere.

Psihrofilă Bacterie la care temperatura optimă de creştere variază între 15-18^0 C.

R

Rata de creştere Indicator al creşterii bacteriene care exprimă numărul de celule per unitatea de timp.

Repicare Tehnică de însămânţare prin care o bacterie este obţinută în cultură pură.

Respiraţie aerobă Respiraţie celulară în care acceptorul final de electroni este O_2.

Respiraţie anaerobă Respiraţie celulară în care acceptorul final de electroni este o substanţă anorganică, alta decât O_2 (ex. CO_2, NO_3^-, SO_4^{2-}).

Reverstranscriptaza Enzimă prezentă la retrovirusuri, care transcrie informaţia din secvenţele ARN ale virusului infecţios în secvenţe ADN ale provirusului ce se integrează în genomul celulei gazdă.

Rezistenţă la antibiotic Capacitatea unui microorganism de a creşte în prezenţa unui antibiotic.

Ribozomi Organite citoplasmatice formate din ARN-r şi proteine, cu rol în sinteza proteinelor.

Rickettsii Procariote parazite obligat intracelular, de dimensiuni foarte mici, ce produc o mare varietate de boli ca tifosul exantematic, febra Munţilor Stâncoşi, febra pătată.

S

Saprofit Organism care îşi procură nutrienţii din materia organică moartă.

Sferoplast Celulă sferică rezultată în urma distrugerii peptidoglicanului la o bacterie Gram-negativă.

BCU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Simbioză Formă de convieţuire a două tipuri de organisme vii, care trăiesc într-o strânsă asociaţie, cu avantaje reciproce.
Simetrie helicală Model de aranjare a subunităţilor proteice ale capsidei care îmbracă molecula de acid nucleic într-o teacă helicală.
Simetrie icosaedrică Model de aranjare a capsomerelor virale într-o capsidă de forma unui icosaedru (corp geometric cu 20 feţe triunghiulare şi 12 vârfuri).
Sintrofie Tip nutriţional în care două sau mai multe microorganisme cooperează în vederea degradării unei substanţe, care nu poate fi catabolizată de fiecare separat.
Spaţiu periplasmic Zona dintre membrana citoplasmatică şi membrana externă a peretelui celular la bacteriile Gram-negative.
Spirili Bacterii mobile, de formă helicoidală, cu perete celular rigid.
Spirochete Bacterii cu perete celular flexibil, caracterizate prin prezenţa unui sau mai multor filamente axiale care le conferă o mare mobilitate.
Sporangiospori Spori formaţi în interiorul sporangiului.
Sporangiu Veziculă sporală în care se formează sporii la unele actinomicete.
Sporulare Proces de formare a sporului (endosporului) numit şi sporogeneză.
Stafilococi Coci grupaţi în grămezi neregulate (ciorchine).
Steril Lipsit complet de microorganisme.
Streptococi Coci grupaţi în lanţuri.
Sulfatreducătoare Grup de bacterii anaerobe care utilizează în respiraţia anaerobă SO_4^{2-} ca acceptor de electroni, producând H_2S.

T

Taxonomie Ştiinţa identificării şi clasificării organismelor.
Teichoic, acid Polizaharid asociat peretelui celular la bacteriile Gram-pozitive.
Termofil Microorganism la care temperatura optimă de creştere variază între 55-75^0 C.
Tetradă Coci grupaţi câte patru.
Timpul unei generaţii Durata necesară pentru dublarea între două diviziuni succesive a unei celule sau populaţii celulare.
Translocarea de grup Proces de transport dependent de energie în care substanţele transportate sunt modificate chimic.
Transport activ Proces dependent de energie prin care substanţele (ioni sau molecule) sunt transportate în interiorul sau exteriorul celulei, împotriva unui gradient de concentraţie.

U

Ubiquinona Non-proteină carrier, cu o greutate moleculară mică, implicată în lanţul transportorilor de electroni, cunoscută şi sub denumirea de coenzima Q.

V

Vacuole cu gaz Organite citoplasmatice ce conferă celulelor bacteriene flotabilitate.
Viabil Viu, capabil de reproducere.
Vibrion Bacterie în formă de bastonaş curbat, asemănătoare unei virgule.
Virion Particulă virală completă, extracelulară, capabilă să infecteze celule vii.
Viroid Agent infecţios mai simplu decât un virus, redus la ARN fără capsidă (ARN infecţios).
Virulenţă Proprietatea unor microorganisme patogene de a infecta şi de a se multiplica într-un organism gazdă susceptibil.
Virus Particulă infecţioasă formată dintr-un singur acid nucleic (ADN sau ARN) înconjurat de un înveliş proteic,

replicându-se numai în interiorul celulei gazdă pe care o parazitează.

Virus temperat Virus al cărui genom se replică sincron cu al celulei gazdă, fără a produce liza celulară.

Virus virulent Virus a cărei infecție în celulă duce la liza celulară; este un virus non-temperat.

Volutină Polifosfat anorganic depozitat în celula bacteriană sub formă de incluziuni, descoperită pentru prima dată la specia *Spirillum volutans*.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., RAFF, M.P., ROBERTS, K., WATSON, J.D., 1994 – ***Molecular biology of the cell***, 3rd ed., Garland Publishing Inc., New York.
2. ALCAMO, I.E., 2003 – ***Microbes and society, an introduction to microbiology***, Jones and Bartlett Publishers, Boston.
3. ALEXANDER, S.K., STRETE, D., 2001 – ***Microbiology: a photographic atlas for the laboratory***, Adison Wesley Longman, Inc., San Francisco.
4. ATLAS, R.M., 1995 – ***Microorganisms in our World***, Mosby Company, St. Louis.
5. ATLAS, R.M., BARTHA, R., 1998 – ***Microbial ecology – fundamentals and applications***, Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., California.
6. BARON, E.J., PETERSON, L.R., FINEGOLD, S.M., 1994 – ***Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology***, 9th ed., Mosby Company, St. Louis.
7. BEVERIDGE, T.J., GRAHAM, L.L., 1991 – ***Surface layers of bacteria***, Microbiol. Rev., 55: 684-705.
8. BLACK, J.G., 1996 – ***Microbiology: Principles & Applications***, 3rd ed., Prentice Hall, New Jersey.
9. BOURGAIZE, D., JEWELL, T.R., BUISER, G.R., 2000 – ***Biotechnology***, Benjamin/Cummings, Addison Wesley Longman, San Francisco.
10. BRENNER, D.J., 1991 – ***Taxonomy, Classification and Nomenclature of Bacteria***, Manual of Clinical Microbiology, 5th ed., American Society for Microbiology Press, Washington D.C.
11. BROCK, T.D., MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J., 1994 –***Biology of Microorganisms***, 7th ed., Englewood Cliffs Prentice-Hall, New Jersey.
12. BUIUC, D.T., 2003 – ***Microbiologie medicală – Ghid pentru studiul şi practica medicinei***, ed. a VI-a, Ed. "Gr. T. Popa", Iaşi.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

13. CAJAL, N., 1990 – ***Tratat de virusologie medicală***, vol. 1, Ed. Medicală, Bucureşti.
14. CANO, J.R., COLOME, J.S., 1988 – ***Essentials of Microbiology***, West Publishing Company, St. Paul.
15. CERNESCU, C.,1998 – ***Virusologie medicală***, ed. a II-a, Ed. Medicală, Bucureşti.
16. COLLIER, L., BALOWS, A., SUSSMAN, M., 1998 – ***Toppley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections***, 9th ed., vol. 1-3, Arnold, London.
17. DAN, VALENTINA, OANCEA, IOANA, KRAMER, CRISTINA, ZARA, MARGARETA, TOFAN, CLEMENSA, 1991 – ***Controlul microbiologic al produselor alimentare***, Ed. Univ., Galaţi.
18. DAN VALENTINA, 1999-2000 – ***Microbiologia produselor alimentare***, vol. I, II, Ed. "Alma", Galaţi.
19. DAVIS, B.D., DULBECCO, R., EISEN, H., GINSBERG, H.S., 1990 – ***Microbiology***, 4th ed., Philadelphia, JB Lippincott.
20. DUNCA, SIMONA, AILIESEI, OCTĂVIŢA, NIMIŢAN, ERICA, ŞTEFAN, M., 2004 – ***Microbiologie aplicată***, Ed.Tehnopress, Iaşi.
21. DUNCA, SIMONA, AILIESEI, OCTĂVIŢA, 2004 –***Biologia termoactinomicetelor***, Ed.Tehnopress, Iaşi.
22. GERHARDT, P., 1994 – ***Methods for General and Molecular Bacteriology***, American Society for Microbiology Press, Washington D.C.
23. HERLEA, VICTORIA., 1998 – ***Microbiologie generală***, Ed. Univ., Bucureşti.
24. HOLT, J.G., 1994 – ***Bergey's Manual of Determinative Bacteriology***, 9th ed., Williams & Wilkins Company, Baltimore,
25. HUDSON, BARBARA, SHERWOOD, LINDA, 1997 – ***Explorations in Microbiology – a discovery based approach***, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
26. INGRAHAM, J.L., INGRAHAM, C.A., 1995 – ***Introduction to Microbiology***, Belmont C.A., Wadsworth Publishing Company.
27. JURCOANE, ŞTEFANA, 2000 – ***Biotehnologii-Fundamente, Bioreactoare, Enzime***, Ed. Tehnică, Bucureşti.
28. KONEMAN, E.W., 1992 – ***Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology***, 4th ed., JB Lippincott Company, Philadelphia.

29. KRIEG, N.R., HOLT, J.G., 1984 – ***Bergey's Manual of Systematic Bacteriology***, vol. 1, Williams & Wilkins Company, Baltimore.
30. LECLERQUE, H., GAILLARD, J.L., SIMONET, M., 1995 – ***Microbiologie Generale***, Doin Editeurs, Paris.
31. LEDERBERG, J., 1992 – ***Encyclopedia of Microbiology***, vol. 1 (A-C), vol. 2 (D-L), vol. 3 (M-R), vol. 4 (S-Z), Index Academic Press, Inc.
32. LIM, D., 1998 – ***Microbiology,*** 2nd ed., WCB, McGraw-Hill, Boston.
33. MADIGAN, M., MARTINKO, J., PARKER, J., 2000 – ***Brock Biology of microorganisms***, 8th ed., Prentice Hall., Inc. Simon & Schuster, Viacom Company, New Jersey.
34. MARCHAL, N., 1992 – ***Initiation á la microbiologie***, Ed. Dunod, Paris.
35. MĂZĂREANU, C., 1999 – ***Microbiologie generală***, Ed. Alma Mater, Bacău.
36. McKANE, L., KANDEL, J., 1996 – ***Microbiology: Essentials and Applications,*** 2nd ed., McGraw-Hill, Inc., New York.
37. MOLDOVEANU, D., MILITARU, C., MOLDOVEANU, IULIA, 2001 – ***Microbiologie şi inginerie genetică***, Ed. Fiat Lux, Bucureşti.
38. MURRAY, R.P., ROSENTHAL, K.S., KOBAYASHI, G.S., PFALLER, M.A., 2002 – ***Medical Microbiology***, 4th ed., Mosby Company, St. Louis.
39. MURRAY, R.P., BARON, E.J., PFALLER, M.A., YOLKEN, R.H., 2003 – ***Manual of Clinical Microbiology,*** 8th ed., American Society for Microbiology Press, Washington D.C.
40. NEIDHARDT, F.C., 1996 – ***Cellular and molecular biology***, 2nd ed., American Society for Microbiology Press, Washington, DC.
41. NIMIŢAN, ERICA, 1992 – ***Biotehnologii microbiene***, Ed. Universităţii "Al. I. Cuza", Iaşi.
42. NIMIŢAN, ERICA, COMĂNESCU, ŞT., MARIN, ELENA, 1997 – ***Ecologia microorganismelor***, Ed. Cermi, Iaşi.
43. POIATĂ, ANTONIEA, 2004 – ***Microbiologie farmaceutică***, Ed. Cermi, Iaşi.
44. PRIEST, F., AUSTIN, B., 1994 – ***Modern bacterial taxonomy***, Chapmann & Hall, London.

45. SALYERS, A.A., WHITT, D.D., 2002 – ***Bacterial Pathogenesis: A molecualr Approach***, 2nd ed., American Society for Microbiology Press, Washington D.C.
46. SCRAGG, H.A., 1988 –***Biotechnology for Engineers***, John Wiley & Sons, New York.
47. SCRIBAN, R., 1984 – ***Biotechnologie***, 2ème ed., Cedex, Paris.
48. SILLIKER, J.H., 1980 – ***Microbial ecology of foods***, Acad. Press Inc., New York.
49. SINGLETON, P., SAINSBURY, D., 1981 – ***Introduction to bacteria for students in the biological sciences***, John Willey & Sons Ltd., New York.
50. SNEATH, P.H.A., HOLT, J.G., 1986 – ***Bergey's Manual of Systematic Bacteriology***, vol. 2, Williams & Wilkins Company, Baltimore.
51. SNEATH, P.H.A., 1992 – ***International code of nomenclature of bacteria***, American Society for Microbiology Press, Washington D.C.
52. STANIER, Y.R., INGRAHAM, L.J., WHEELIS, L.M., PAINTER, R.P., 1986 – ***The Microbial World***, 5th ed., Prentice Hall, Englewood, Cliffs, New Jersey.
53. STALEY, J. T., HOLT, J. G., 1989 – ***Bergey's Manual of Systematic Bacteriology***, vol. 3, Williams & Wilkins Company, Baltimore.
54. STOLP, H., 1998 – ***Microbial ecology***, Cambridge Univ. Press, Cambridge.
55. TALARO, K., TALARO, A., 1996 – ***Foundations in Microbiology***, 2nd ed., Dubuque IA, Wm. C. Brown Publishers.
56. TOPALĂ, N.D., 1978 – ***Microbiologie generală***, vol. I, Ed. Universității "Al. I. Cuza", Iași.
57. TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L., 2002 – ***Microbiology, an introduction***, Pearson Education, Inc., San Francisco.
58. WILLIAMS, S.T., HOLT, J.G., 1989 – ***Bergey's Manual of Systematic Bacteriology***, vol. 4, Williams & Wilkins Company, Baltimore.
59. WOESE, C.R., 1994 – ***Microbiology in transition***, Proc. Natt. Acad. Sci. USA, 91: 1601-1603.
60. ZARNEA, G., 1983 – ***Tratat de microbiologie generală***, vol. 1, Ed. Academiei R.S.R., București.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

61. ZARNEA, G., 1984 – ***Tratat de microbiologie generală***, vol. 2, Ed. Academiei R.S.R., Bucureşti.
62. ZARNEA, G., 1994 – ***Tratat de microbiologie generală***, vol. 5, Ed. Academiei Române, Bucureşti.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

B.C.U. „M. EMINESCU" IAŞI

1879/05

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Elemente de Microbiologie

Lumea microorganismelor reprezintă un domeniu complex şi fascinant al ştiinţelor biologice, astfel încât interesul ştiinţific pentru studiul lor înregistrează în prezent o creştere permanentă. Lucrarea „*Elemente de microbiologie*", volumul I, reprezintă o publicaţie necesară şi oportună, cuprinzând istoricul dezvoltării microbiologiei ca ştiinţă şi poziţia microorganismelor în lumea vie, elementele fundamentale privind structura, compoziţia chimică, nutriţia, metabolismul, creşterea şi multiplicarea bacteriilor, ultimul capitol fiind rezervat virusurilor.

ISBN 973-37-1042-3
vol. 1: 2005: ISBN 973-37-1043-1